

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

IVF TEDAVİLERİNDE ERKEK FAKTÖRÜ ŞİDDETİNİN ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice Esra CAN

Enstitü Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

Tez Danışman: Dr.Öğr. Üyesi Özcan BUDAK

OCAK - 2022

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**IVF TEDAVİLERİNDE ERKEK FAKTÖRÜ
ŞİDDETİNİN ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice Esra CAN

Enstitü Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

“Bu tez 17 / 01 /2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oy birliği/ Oy çokluğu ile kabul edilmiştir.”

JÜRI ÜYESİ	KANAATI	İMZA

BEYAN

Bu alışma T.C. Sakarya Üniversitesi Rektrlğ Tıp Fakültesi Dekanlığ Etik Kurulu’ndan 332 sayılı 17/06/2021 tarihinde onay alarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

17/01/2021

Hatice Esra CAN

TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Yüksek Lisans eğitim süresince fikir, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve tez çalışmamın başından sonuna kadar her aşamasında yardım ve desteklerini aldığım değerli danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Özcan BUDAK hocama, yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve fikirlerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Elvan ŞAHİN ve Prof. Dr. Nureddin CENGİZ hocalarıma, hayatımın her anında maddi ve manevi olarak yanımda olan sevgili ailem ve kardeşlerime teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMA VE SİMGELER	vi
TABLolar.....	vii
RESİMLER LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	ix
SUMMARY.....	xi
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.ERKEK ÜREME SİSTEMİ	4
2.1.1.Erkek Dış Üreme Organı	4
2.1.2.Erkek İç Üreme Organı.....	4
2.1.2.1.Epididimis	5
2.1.2.2. Ductus Deferens (Vas Deferens).....	5
2.1.2.3.Yardımcı Bezler	5
2.1.2.4.Testis (Erbezi)	5
2.2.İNFERTİLİTE	10
2.2.1. Kadın İnfertilitesi ve Nedenleri	11
2.3.1.1.Ovulatuvar Faktör	14
2.3.1.2.Endometriozis	14
2.3.1.3.Tubal Faktörler ve Pelvik Adezyonlar	15
2.3.1.4.Uterin Faktör	15
2.2.2.Açıklanamayan İnfertilite	16
2.2.3.Erkek İnfertilitesi ve Nedenleri.....	17
2.2.3.1.Varikosel	20
2.2.3.2.Anatomik Bozukluklar	20
2.2.3.3.Endokrin Bozukluklar	21
2.4.SEMEN ANALİZİ	21
2.5. SPERM ELDE ETME YÖNTEMLERİ	28
2.5.1.Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu (PESA).....	29

2.5.2.Mikrocerrahi Epididimal Sperm Aspirasyonu (MESA)	30
2.5.3.Testiküler Sperm Aspirasyonu (TESA)	31
2.5.4.Testeküler Sperm Ekstraksiyonu (TESE)	31
2.6. YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ	32
2. 6. 1. İntrauterin İnseminasyon (IUI)	33
2.6.2. İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI)	35
2.6.3. İnvitro Fertilizasyon (IVF)	35
2. 7. IVF TEDAVİSİ AŞAMALARI	38
2. 7. 1. Oosit Toplama İşlemi (OPU).....	39
2. 7. 2. ICSI-Fertilizasyon.....	40
2.7. 3. Embriyo Takibi	41
2.6.4.Embriyo Transferi.....	41
3.GEREÇ ve YÖNTEMLER	42
3.1. ÇALIŞMA SIRASINDA DENEYDE KULLANILAN EKİPMANLAR.....	43
3.1.1. Santrüfuj Cihazı	43
3.1.2. Otomatik pipetör	43
3.1.3. Mikroskop.....	43
3.1.4. Flow kabin (Steril Kabin)	43
3.1.5. İnkübatör	43
3.1.6. Konik Tüp	44
3.1.7. Mikro akışkan çip	44
3.2. HASTA SEÇİMİ	44
3.3. MAKROSKOBİK DEĞERLENDİRME	46
3.3.1. Makler Sayım Kamarasında Semen Mikroskopik Değerlendirilmesi ...	46
3.3.2. Konsantrasyon (Dansite) Ölçümü.....	47
3.3.3. Total Sperm Sayısının Hesaplanması	47
3.3.4. Motilitenin Değerlendirilmesi.....	47
3.4. SPERM HAZIRLAMA YÖNTEMİ SEÇİMİ	47
3.4.1. Swim-Up Yöntemi.....	48
3.4.2. Kontrollü Hiperstimülasyon ve ICSI Prosedürü.....	50
3.5. YUMURTA TOPLAMA İŞLEMİ (OPU-OOSİT PICK-UP).....	50
3.6. OOSİT DENÜDASYONU VE MATÜRASYON TAYİNİ	51
3.7. MİKROENJEKSİYON-ICSI (INTRA CYTOPLASMİK SPERM INJECTION) İŞLEMİ	51

3.7.1. ICSI petrisi hazırlama	51
3.7.2. Mikroenjeksiyon işlemi	52
3.8. EMBRİYO KÜLTÜRÜ	53
4.BULGULAR.....	54
İSTATİSTİKSEL ANALİZ	54
SONUÇ	54
5.TARTIŞMA ve SONUÇ	58
6.KAYNAKÇA	63



KISALTMA VE SİMGELER

ABP	: Androgen Bağlayıcı Protein
AMP	: Anti-Müllerian Faktör
°C	: Santigrat
CC	: Klomifen Sitrat
COC	: Koronakümümlüs kompleksi
ET	: Embriyo Transferi
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
Hcg	: Koryonik gonadotropin
ICSI	: İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IUI	: İntrauterin İnseminasyon
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
LH	: Luteinizan Hormon
MESA	: Mikrocerrahi Epididimal Sperm Aspirasyonu
OAT	: Oligo-Asteno-Teratozoospermi
OPU	: Oosit Toplama (OPU)
PESA	: Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu
PGD	: Preimplantasyon Genetik Tanı
SEAH	: Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi
TESA	: Testiküler Sperm Aspirasyonu
TESE	: Testeküler Sperm Ekstraksiyonu
TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknolojisi
ml	: Mililitre
µm	: Micrometre
µL	: Microliter

TABLÖLAR

Tablo 1: İnfertil olan çiftlerin değerlendirmesi öncesi optimum bekleme süresi.....	13
Tablo 2: Kadın hastaların incelenmesinde hikaye ve fizik muayenesi.....	13
Tablo 3: DSÖ verilerine göre semen analizi.....	26
Tablo 4: Çalışmamızdaki çiftlerimize ait yaş, BMI ve tedavide kullanılan total gonadotropin parametreleri karşılaştırılması.....	56



RESİMLER

Resim 1: Sperm Sayım Kamarası.....	23
Resim 2: Işık Mikroskopunda ile Sperm Sayım Kamarası	24
Resim 3: Sperm Hücreleri.....	25
Resim 4: Fonik tüp.....	25
Resim 5: Santrifüj Cihazı.....	28
Resim 6: Biyogüvenlik ve PCR çalışma kabini.....	40
Resim 7: ICSI micromanipulator.....	41
Resim 8: Mikroenjeksiyon yöntemi.....	41
Resim 9: Dölllenmiş embriyo.....	42
Resim 10. Gruplar arası total oosit, MII evresindeki oosit, Fertilize olan Oosit ve 5.gün grade1 embriyo verilerinin karşılaştırılması.....	57

ÖZET

IVF TEDAVİLERİNDE ERKEK FAKTÖRÜ ŞİDDETİNİN ETKİLERİ

GİRİŞ VE AMAÇ: Yaptığımız çalışmada; sperm sayısı 15 milyon/ml olan oligospermik, sperm sayısı normal kriterler içerisinde olan normospermik, ejakülatında sperm elde edilemeyen (azospermi) fakat TESE ile sperm elde edilmiş hastalarımızın IVF başarısı üzerine etkilerini karşılaştırmayı amaçlandık. Ayrıca hastaları araştırırken; hasta grubunun fertilizasyon, embriyo gelişimi gibi önemli parametreleri ile beraber gebelik sonuçları değerlendirildi.

GEREÇ VE YÖNTEMLER: Bu amaçla, Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin Tüp Bebek Merkezindeki hasta dosyalarını kullanarak retrospektif bir çalışma yaptık. Çocuk sahibi olamama nedeniyle merkeze gelen çiftlerimizden erkek faktörü endikasyonu olan hastaları araştırırken; hasta grubunun fertilizasyon, embriyo gelişimi gibi önemli parametreleri ile beraber gebelik sonuçları değerlendirildi. Karşılaştırma yapılırken kadın ve erkek hastanın yaşı, endikasyon durumları ve gebelik sonucu gibi parametreler incelendi ve hasta verileri istatistiksel olarak değerlendirildi. Çalışmamızda grupları karşılaştırmak için total oosit sayıları, MII oosit sayıları, fertilize olmuş yumurta sayısı, beşinci Grade 1 embriyo sayıları ve gebelik oranlarına bakıldı.

BULGULAR: Çalışmamızdaki kadın ve erkeklerin yaş ortalaması; kadın ve erkeklerin BMI leri, tedavide kullanılan total gonadotropin miktarları, arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi

Çalışmamızda üç farklı erkek infertilitesi görülen hastalarımızdan elde ettiğimiz spermler ile yaptığımız ICSI işlemlerinde, toplam oosit sayısı, MII evresindeki oosit sayısı, fertilize olan oosit sayısı, 5.gün kaliteli embriyo sayıları ile ilgili karşılaştırmalar yapıldı. Üç grup arasında toplanan oosit, MII oosit sayıları arasında fark görülmedi. Fertilize oosit sayıları, 5.gün iyi kalite embriyo sayıları arasında Normozoospermi grubu anlamlı farklar görüldü. Çalışmamızda erkek faktörüne bağlı infertil olan çiftlerde gebelik oranları, oligozoospermik grubunda %32,56 TESE

grubunda %13,04 ve normozoospermi grubunda ise %35,63 oranında gebelik gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Normozoospermik ve Oligozoospermik gruplar arasında gebelik oranlarına bakıldığında, ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklar görülmedi. Ancak Normozoospermi ve Oligozoospermi gruplarının TESE grubu ile yapılan ikili karşılaştırmalarda her iki grubun TESE grubuna göre daha yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek gebelik oranlarına sahip oldukları görüldü.

SONUÇ: Erkek endikasyonun IVF başarısına etkilerini araştırmak amacıyla yapılan bu retrospektif çalışmamızda gruplar arasında gebelik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: İn vitro fertilizasyon, azospermi, normozoospermi, oligospermi, erkek faktör

SUMMARY

THE EFFECTS OF MALE FACTOR INTENSITY IN IVF TREATMENTS

INTRODUCTION AND Aim: In our study; We aimed to compare the effects on IVF success of our patients who are oligospermic with a sperm count of 15 million/ml, normospermic within the normal criteria, who cannot obtain sperm in their ejaculate (azoospermia), but whose sperm were obtained by TESE. In addition, while investigating patients; pregnancy results were evaluated together with important parameters such as fertilization and embryo development of the patient group.

MATERIALS VE METHODS: For this purpose, we conducted a retrospective study using the patient files at Sakarya University Training And Research Hospital, Infertility Center. While investigating patients with male factor indication among our couples who came to the center due to inability to have children, pregnancy results were evaluated together with important parameters such as fertilization and embryo development of the patient group. While making the comparison, parameters such as the age, indication status and pregnancy outcome of the female and male patients were examined and the patient data were evaluated statistically. In our study, total oocyte counts, MII oocyte counts, fertilized eggs, fifth Grade 1 embryo counts and pregnancy rates were evaluated to compare the groups.

RESULTS: There was no statistical difference between the total oocyte and MII oocyte event collected in ICSI two groups with aged sperm from patients from two different male infertility patients. Fertilized oocyte stolen, good quality embryo sample on the 5th day Normozoospermia class differed.

Depending on our male factor, 13.04% and Normozoospermia were used in the staff working in infertile couples. According to the comparisons made between the three groups, there are differences in meaning as objects. No difference was found between Normozoospermia and similarigozoospermia in pairwise comparisons between the groups. However, Normozoospermia and Oligozoospermia group are the observations

of a team whose two groups are higher with TESE training in pairwise comparisons of the TESE group.

CONCLUSION: In this retrospective study, which was conducted to investigate the effects of male indication on IVF success, statistically significant differences were found between the groups in pregnancy rates.

KEYWORDS: In vitro fertilization, azoospermia, normozoospermia, oligospermia, male factor

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Fertilizasyon, üreme hücrelerinin oluşumu ile başlayıp kompleks olarak devam eden karmaşık bir süreç olarak ifade edilebilir. Erkek üreme hücresi olan spermatozoon ile dişi üreme hücresi olan oosit II'nin birleşerek döllenmesi ile yeni bir canlı olan zigot şekillenir. Kadın ve erkeğin yaşı, yaşam tarzı, çalışma ve yaşam koşulları, kullanılan ilaçlar, teknolojik gelişmeler, endüstrileşme, çevresel faktörler gibi birçok etken üreme sistemini ve doğum oranlarını etkilemektedir. (Demirci & Kızılkaya Beji, 2017) Bu etkiler sonucunda giderek artan infertilite sorunlarının tanı ve tedavisi, bireylerin çocuk sahibi olmasına imkan sağlamaktadır. Çok uzun yıllardır yapılan infertilite çalışmaları ise bu karmaşık sürecin yönetilmesi ve ortaya çıkan sorunların daha kolay çözülebilmesini amaçlamaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün kriterlerine göre çocuk sahibi olmak isteyen çiftlerin, bir yıl veya daha uzun süreli düzenli koitusa rağmen kadının gebelik elde edememesi durumu infertilite olarak açıklanmaktadır. 35 yaş altındaki çiftlerde 12 ay, 35 yaşın üstünde kadınlarda korunmasız 6 ay düzenli ilişkiye rağmen gebe kalınamaması durumunda tanı ve tedavi adımlarına erken başlanabilir. (Topçu et al., 2017; WHO laboratory manual 2010)

Yardımcı üreme teknolojisi, doğal yolla gebe kalamayan çiftlerin başvurduğu yüksek başarı oranlarına sahip olan tıbbi tedavi ve yöntemlerine denilir. Bu tedavi ve yöntemlerden en çok tercih edilen in vitro fertilizasyondur (IVF). Kadın ve erkek hastanın yaşı, infertilite endikasyonları ve süresi gibi birçok etken göz önüne alınarak gerçekleştirilen yardımcı üreme tekniklerinin uygulanması ile birlikte gebelik oranları önemli düzeyde artış göstermiştir. Ayrıca hasta çeşitliliği ve kullanılan yöntemlerin

geliştirilmesi ile beraber tedavi için kullanılan yöntemlerin sayısı da artmaktadır. IVF, laboratuvar ortamında overlerden yumurtayı alma, fertilize etme ve hastanın uterusuna yerleştirmeden oluşan bir tekniktir. Hastanın yaşı, infertilite süresi, etiyolojisi gibi birçok etken göz önüne alınarak, çifte çözüm olabilecek en etkin, ekonomik ve çift için en avantajlı basamakları uygulayarak gerçekleştirilir. (Tanoğlu & İrez, 2020)

İnfertilite evli olan çiftlerin yaklaşık %15'inde karşımıza çıkar. Bu vakaların yaklaşık olarak %30-50'sinde erkek kaynaklı nedenler etkilidir. (Tournaye ve Cohlen, 2012). Semen analizi; bireyin fertil olup olmadığının değerlendirilmesinde kullanılan ilk ve en önemli basamaklardan biridir. Klasik semen analizi testinde; toplam hacime, sperm konsantrasyonuna, semen volümüne, semen pH derecesine, morfolojik yapısına, spermin hareketi gibi birçok özelliğine bakılır. Sperm morfolojisi, motilitesi ve konsantrasyonu gibi parametreler erkek hastaların fertilite durumlarının belirlemek için kullanılabilir fakat infertilite tanısı koyulmak için tek başına yeterli değildir. (Sigman ve ark., 2009).

WHO standart değerlerine göre 15 milyon/ml ve daha fazlası normal değer olarak kabul edilmektedir. İnfertil olan erkek hastaların bir kısmında azospermi, bir kısmında oligozoospermi ve bazı infertil hastalarda ise sperm sayısı normal olarak saptanmıştır. Erkek üreme sisteminde epididim, duktus deferens, vesikula seminalis, prostat gibi salgılarının karışmasıyla oluşan ve içinde spermleri bulunduran sıvıya ejakülat denilir. Ejekülatta hiç sperm hücrelerinin olmaması anlamına gelen azospermi, erkek infertilite olgularında %1 oranında, tüm infertilite olgularında ise %10–15 oranında bulunur. Ejekülatta sperm hücrelerinin normal değer altında olmasına ise oligozoospermi denilir. Ejekülattaki sperm hücrelerinin canlı, sağlıklı ve hareketli olduğu normal referans değerlerinde olması durumuna ise normozoospermi denilir. (Satar & Gençdal, 2013)

Azospermik hastalara IVF merkezlerinde sperm elde edilmesi için testeküler sperm ekstraksiyonu (TESE) yapılmaktadır. Bu yöntem erkek infertilitesinde ağır

oligozoospermik ve azospermik hastalarda tercih edilir. Böylelikle hastadan sperm elde edilebilir ve IVF tedavisinde kullanılabilir. (Sabri & Halil, 2019)

Biz  alışmamızda, sperm sayısının 15 milyon/ml ve üzeri hasta grubu ile 15 milyon/ml altında olan hasta grubu ve azospermi hasta grubu ile sperm enjeksiyonu sonrasında elde edilen embriyo kalitesi ve gebelik durumlarını karşılaştırmak istiyoruz. Böylelikle, erkek faktörü infertilite endikasyonunun IVF başarısı üzerine etkilerini mukayese edebileceğimizi düşünmekteyiz.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.ERKEK ÜREME SİSTEMİ

Üreme sistemi, yeni üreme hücrelerin üretilip, işlev kazanmasını sağlayan yapı olarak tanımlanabilir. İnsanlarda dişi ve erkek olmak üzere iki cins üreme sistemi bulunur. Erkek üreme sistemi; spermatogenez olayı ile üreme hücresi olan spermleri üretmek, cinsiyet hormonu olan testosteron üretmek ve oluşan hücreleri gerekli yerlere taşımak ile görevlidir. Erkek üreme sistemi pelvis bölgesinde bulunur. Erkek üreme organı; dış üreme organı ve iç üreme organı olarak iki bölümde incelenir. (Şahin, 2019)

2.1.1.Erkek Dış Üreme Organı

Dış üreme organları penis ve skrotumdan oluşur. Skrotum (erbezi torbası) testislerde spermler vücut ısısından birkaç derece ısıda olgunlaşır. Skrotum duvarındaki kaslar sayesinde kasılıp gevşeyerek spermlerin olgunlaşması için uygun ısıyı sağlar. Penis semen ve idrarın dışarıya atılmasını sağlar.

2.1.2.Erkek İç Üreme Organı

Sperm üretmen testis, spermleri ileten kanallar olan epididimis, vas deferens veyardımcı bezlerden oluşur. (Şahin,2019; Michael H.Ross,2014) (Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi, 2013)

2.1.2.1.Epididimis

Testis'in arka üst kenarınca uzanan sperm hücrelerinin olgunlaşmasını ve bir kısmının depolanmasını sağlayan 5 cm uzunluğunda kanal yumağıdır. Bu kanalcıklar birleşerek duktus epididimi oluştururlar. Testislerde gelişimini tamamlamış olan spermeler burada depolanır ve olgunlaşırlar. Sperm hücrelerinin testiste ilk üretildikleri zaman hareket yetenekleri yoktur, yumurtayı dölleyemezler. Epididimden geçerken hareket etme yetenekleri oluşur. Prostat salgısı ile hareket etme yetenekleri son şeklini alır. Spermelerin yumurtayı dölleyebilme özelliği kazanmasına kapasitasyon adı verilir. (Şahin,2019; Michael H.Ross,2014;Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi, 2013)

2.1.2.2. Ductus Deferens (Vas Deferens)

Sperm hücrelerinin büyük bir kısmı burada depolanır. Epididim ve vas deferenste spermeler yaklaşık olarak bir ay fertil olarak kalabilir. Eğer bu süre içinde atılmazsa, dejenere olur ve vücut tarafından parçalanırlar. (Şahin, 2019)

2.1.2.3.Yardımcı Bezler

Prostat salgısı hacim olarak incelendiğinde ejakülattaki en büyük kısmını oluşturur. Salgısına bakıldığında asit fosfataz, kolesterol, su ve fosfolipid bulunduru. Prostat bezi yumurtanın döllemesini sağlamak için alkali (bazik) yapıdadır. Cowper bezi salgısı; galaktoz şekeri, siyalik asit, galaktoz ve galaktozamin gibi maddeler içermektedir. Salgı, seksüel uyarı sırasında üretra'ya girer kalan idrarı nötralize etmek için alkali karakterdir. (Şahin,2019; Michael H.Ross,2014;Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi, 2013)

2.1.2.4.Testis (Erbezi)

Scrotum kesesi içerisine yerleşmiş erkek üreme sisteminin merkezi bir çift organdır. Testislerin (orchis), spermatogenez ile sperm hücresi üretmek ve seks hormonları olarak da bilinen androjenlerin sentezlenmesi (steroidogenez) olmak üzere başlıca iki

önemli görevi üstlenir. Spermatogenez olayı için androjen hormonları gereklidirler, aynı zamanda seksüel dimorfizmden sorumludurlar. (Michael H. Ross, 2014)

Sperm hücreleri testislerde üretildikten sonra dış genital kanallar yardımıyla erkek eşey organı ile taşınmaktadır. Testislerin iç yapısında seminifer tübüller yer alır. Testisin içerisi lobüler yapıya ayrılmıştır ve her bir lobülde seminifer tübüller bulunur. Spermatozoa bu kanallarda üretilir ve spermier burdan lümeneye dökölür. Seminifer tübüllerde erkek üreme hücreleri olan spermatozoonları üretirken interstisyel hücreler de testis androjenlerini salgılar. Seminifer tübüllerin yapısı çok katlı epitelyum hücreleri ile çevrilidir ve iki çeşit hücre içerirler. Bunlar sertoli hücreleri ve spermatogenetik hücrelerdir. (Williams, 1995; Hai, 2014,Şahin 2019; Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi, 2013)

Erbezlerindeki seminifer tüpçüklerin içinde sperm hücrelerinin oluşumunu sağlayan germ hücreleri ve gelişmeye devam eden sperm hücresinin beslenmesini ve desteklenmesini sağlayan sertoli hücreleri bulunur. Bunlar prizmatik, uzun ve büyük hücre yapısına sahiptir. (Kefelioğlu, n.d.)

Sertoli hücreleri gelişimini tam olarak tamamlayamamış spermierin mayoz bölünmeden sonra yüzeye tutundukları destek hücreleridir. Bu hücreler yaygın bir granüllü endoplazmik retikulum bulundururlar. Bu hücreler, spermiyogenezin son basamaklarında oluşan rezidüel cisimcikleri, farklılaşmayı tamamlayamamış spermatogenetik hücreleri fagositoz ile ortadan kaldırırılar. (Michael H. Ross, 2014)

Sertoli hücreleri; olgun spermatidlerin spermiyasyon sürecinde seminifer tübül lümenine verilmesini kolaylaştırmak, seminifer tübül lümenine proteinler ve iyonlardan zengin bir sıvı salgılamak olarak sıralanabilir. Spermium hücrelerinin demiri kandan almasına yardımcı olur. (Kefelioğlu, n.d.)

Sertoli hücreleri FSH hormonuna cevap oluştururlar ve FSH hormonu ise ABP sentezini ve salgılanmasını etkiler. Bu hücreler aynı zamanda inhibin ve aktivin alt ünitelerini üretimini etkiler. İnhibin, gonodotropin salgılayıcı faktör ile FSH hormonu üzerine negatif bir feedback mekanizması oluştururken, aktivin FSH üzerine pozitif yönde bir feedback gerçekleştirir. (Michael H. Ross, 2014)

2.1.2.4.1. Leydig Hücreleri

Leydig hücreleri poligonal, büyük, eozinifilik yapıya sahip hücrelerdir ve lipid damlacıkları bulundururlar. Yoğun miktarda granülsüz endoplamik retikuluma organeline sahiptirler. Çok sayıda küre şekilli ve uzun mitokondriyon iyi gelişmiş bir golgi aygıtı ve değişken sayı da mikrotübüllere, lizozomlara, lipid damlacıklarına, veziküllere, glikojen granüllerine ve filamentlere sahiptirler. İnsanda, bazal siroplazmada karakteristik inklüzyon cisimcikleri bulunmaktadır. Bu ince füziform kristalloidler rutin histolojik preparatlarda görülebirlirler. Transmisyon elektron mikroskopi ile paralel ya da birbirine yaklaşı düz, yoğun, filament demetleri olarak görülürler. Kimyasal kompozisyonları ve fonksiyonları bilinmemektedir. Leydig hücreleri hipofiz bezinin LH'ı uyarması sonucu testosteron salgırlar. Testosteron hormonu steroid yapıya sahip olan bir hormondur. Bu nedenle leydig hücreleri steroid sentezi gerçekleştirebilen hücre yapısına sahiptir. (Kefelioğlu, n.d.; Michael H. Ross, 2014)

Leydig hücreleri erken fetal dönemde değişim göstererek testosteron salgırlar. Bu salgılarda embriyonik farklılaşma, üreme faaliyetleri ve cinsel olgunlaşma için gereklidir. Leydig hücreleri ergenlik döneminde gonadotropinlerle karşılaştığında, yeniden androjen salgılayan hücelere dönüşürler ve hayatı boyunca aktif olarak kalırlar. (Michael H. Ross, 2014)

2.1.2.4.2. Spermatogenez

Spermatogonim hücreleri ergenlik dönemi ile başlayan belirli olaylar sonucunda olgun eşey hücrelerini oluştururlar. Bu olayların tamamına spermatogenez denilir. Hipofiz bezinden FSH hormonun salgılanması ile gerçekleşir. Bu olay seminifer tübüller içerisinde gerçekleşmektedir. Seminifer tübüllerin arasında bulunan intersitisyel doku; lenf ve kan damarları, büyüme etkenleri ve testosteron üreten Leydig hücrelerini barındırır. Spermatogenezis ergenlik dönemi ile başlayan ve ileri yaşlara kadar devam eden bir olaydır. Hipofiz bezinin uyarılması sonucu salgılanan LH hormonu testislerde bulunan bağ dokusu içinde yer alan Leydig hücrelerine uyarı göndererek, onların testosteron salgılamasını uyarır. (*Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi*, 2013; Kefelioğlu, n.d.)

2.1.2.4.3. Spermiyogenez

Bu son aşamada spermatidler son derece özelleşmiş hücreler olan spermatozoonlara evrilmektedir. Bu süreçte hücre bölünmesi gerçekleşmektedir. (Junqueira ve ark 1998). Spermatositin spermatid evresine geçerken 46 kromozomlu olan spermatositin kromozom sayısı yarıya inmektedir. Spermiyogenez, spermatidlerin olgunlaştığı ve hareket yeteneği kazandığı sperm oluşumu olarakta bilinmektedir. Spermatid; tek çekirdekli, mitokondri, golgi aygıtı ve sentriol içeren bir hücredir. Spermatid hücrelerinin spermatozoonlara dönüşümü sertoli hücreleri içerisinde gerçekleşir.

Spermiyogenez süreci; golgi fazı, akrozom oluşumu, çekirdek yoğunlaşması ve maturasyon(olgunlaşma) evresi olmak üzere dört aşamadan oluşur. Spermiyogenez olayı sonucu oluşan spermier baş bölgesi, boyun bölgesi ve kuyruk bölgesi olmak üzere üç bölgede incelenir.(Kızılay & Altay, 2019; Tuncel, 2013; Zülfikaroğlu et al., 2014)

2.1.2.4.4.Sperm Yapısı

Sperm yaklaşık 55- 60 µm uzunluğunda silindir şekilli hareketli bir hücredir. Spermin büyük parçasını oluşturan; armut şeklindeki baş kısmında nukleus ve akrozom kesesi olmak üzere 2 önemli organel vardır. Sperm başının büyük kısmını oluşturan nukleusta, genetik materyali taşıyan genomik DNA yer alır. Akrozom, çekirdeği ön taraftan sarar ve çekirdek zarına akroplakzom adı verilen F-aktin taşıyan hücre iskeleti elemanı ile bağlanır. Çekirdek yassılaştırmıştır ve yoğun biçimde görülür. Akrozom kesesinin içinde yumurta zarını delmek için gereken hidrolitik enzimler bulunmaktadır. Akrozom kesesinin içinde hiyaluronidaz, akrozin, nöroaminidaz, proteazlar, asit fosfatazlar gibi hidrolitik enzimler yer alır. Bu enzimler fertilizasyon olayında spermatozoonun korona radiata ve zona pelusidaya penetre olmasını kolaylaştırır. Ovumun fertilize olması için akrozomal membranın birçok noktadan oosit plazma membranına bağlanması ve akrozomal reaksiyonları başlatması ve hidrolitik enzimleri aktive etmesi gerekmektedir. Akrozom kompleksinin oluşumundaki bazı hatalar spermin baş bölgesindeki globozoospermi gibi anomalilere yol açar ve böyle durumlarda yolla gebelik de görülmemektedir. (VanhaPerttula, 1978;Kierszenbaum ve Tres, 2015;Gartner, 2017;Efsun,2018; Masoud,2017)

Spermin baş ile kuyruğunu bağlayan bir çift sentriyol ve onunla bağlantılı proteinleri taşıyan ince bir bölümdür. Sentrozomun asıl işlevi; yumurtanın bölünerek çoğalmasını ve embriyo gelişimini başlatır. Boyun kısmında meydana gelen hatalar sperm hareketlerini etkilediği için ağır erkek infertilitesine sebep olan spermatozoon dekapitasyonuna yol açabilir. Aynı zamanda hücre bölünmesinde de aksaklıklar meydana geleceği için embriyo gelişiminde de problemler görülebilir. Spermin orta kısmında enerji üretiminden sorumlu olan mitokondriler sarmal şekilde konumlanmıştır.(Kierszenbaum ve Tres, 2015;Sutovsky & Manandhar, 2006;Efsun, 2018; Masoud, 2017)

Kuyruk kısmı spermin doğal yolla yumurtaya ulaşması için hareketini sağlayan ince ve tek parçadan oluşan en uzun kısımdır. Aksonem adı verilen ve mikrotübülerden

oluşan, spermin kuyruk hareketini sağlayan yapıdır. Mikrotübüller ise dynein olarak bilinen yapısal bir proteinden oluşmaktadır. (Tosumoğlu, 2018)

2.2.İNFERTİLİTE

WHO verilerine göre “Çocuk sahibi olmak isteyen çiftlerde, bir sene veya daha uzun süreli düzenli koitusa rağmen gebelik elde edememesi durumudur.” 35 yaşından küçük olan kadınlarda korunmasız bir yıl boyunca, 35 yaşını geçmiş olan kadınlarda ise korunmasız 6 ay düzenli ilişkiye (haftada 2-3 kez) rağmen gebe kalınamaması infertilite olarak tanımlanır. (Topçu et al., 2017)

Evli olan çiftlerden herhangi birinin ya da eşlerin ikisinin birden fertilitésinin azalmasına bağlı olarak çocuk sahibi olamamasına subfertilite denilir. Subfertilite birincil veya ikincil olabilir. En az 1 yıl korunmaksızın düzenli olarak cinsel ilişkide bulunulduğu halde gebeliğin olmaması ya da hamileliği canlı doğuma taşıyamama nedeniyle çocuk sahibi olamamasına primer infertilite denir. Sekonder (ikincil) infertilite; çiftin canlı doğum veya ölü doğum, dış gebelik veya düşük öyküsü ile sonuçlanan bir veya daha fazla gebelik geçirmesine rağmen son 12 ay içinde düzenli korunmasız cinsel ilişkiye rağmen hamile kalamama durumudur. (Demirci & Kızılkaya Beji, 2017)

Gebe kalma şansı, erkek ve kadının yaşına, koitus sıklığına ve uzunluğuna, tekniğe ve zamana bağlıdır. Normal genç çiftlerin 1 aylık korunmasız cinsel ilişkiden sonra hamile kalma oranı %25'tir. Çiftlerin %70'i 6 ay içinde, %90'ı 1 yıl içinde hamile kalmaktadır. Çiftlerin sadece %5'i bir buçuk veya iki yıl sonra hamile kalır. 30 yaşından sonra kadın infertilitesi %25'e ulaşır ve 40 yaşından sonra doğurganlık daha hızlı düşer. (Speroff L. 1999;Kübra, 2019)

Günümüz toplumunda, stresli yaşam koşulları, kadının iş yaşamına katılımı, gebelik kontrol yöntemlerine erişimin artması, teknolojik ilerlemeler, doğal olmayan beslenme, sigara ve alkol alışkanlığı, radyasyon, kullanılan ilaçlar, erkeğin semen kalitesindeki problemler ve sperm sayılarındaki düşüklük gibi nedenlerin yanında kadınların çocuk sahibi olmayı ertelemeleri gibi etkenler sebebiyle infertil çiftlerin sayısı artmıştır. (Demirci & Kızılkaya Beji, 2017)

İnfertilite şikayeti ile uzmanlara başvuru yapan hastalara uygulanan ilk adım hastanın detaylı şekilde anamnezinin not edilmesi gerekir. Çiftlerin hikayesi ayrıntılı bir şekilde dinlenilmeli, fiziki muayene ve basit laboratuvar testlerinin sonuçlarına bakılarak hastalar için en uygun olan yol izlenilmelidir. (Dr.Sedat, 2013)

İnfertilite nedenleri incelenirken bazı durumlarda kadınlara, bazı durumlarda erkek bireylere ait sebeplerden kaynaklı olabilir. Buna karşın bazı durumlarda ise her ikisinde de sorun oluşturabilecek bir neden yokken gebelik elde edilemeyebilir. Bazen infertilite açıklanamayan nedenlerden kaynaklanabilmektedir.

2.2.1. Kadın İnfertilitesi ve Nedenleri

Kadın genital sisteminin karmaşık olan yapısı ve fonksiyonları nedeni ile hamileliğe engel teşkil edebilecek birçok neden ve nedenler bulunabilir. (Açıkgöz, 2019) Kadın infertilitesinin en sık görülen nedenlerinin saptanması için en az basit yöntemlerden başlayarak, tüm ilgili faktörler dikkate alınmalıdır. İnfertilite nedenini saptayabilmek için sistematik, hızlı ve uygun maliyetli bir çalışma yürütülmesi gerekir. Değerlendirmenin hızı ve süresi, hasta yaşı, infertilitenin süresi, hastanın tıbbi öykü ve fizik muayenenin özellikleri göz önünde bulundurularak belirlenmelidir. (Dr.Gonca, 2017)

Kadın infertilitesinin araştırılmasına iyi bir anamnez ve fizik muayene ile başlanılmalıdır. Fizik muayenede, hastanın vücut kitle indeksi mutlaka hesaplanmalıdır. Kadın 35 yaş ve altında ise 1 yıl korunmasız koitus sonrasında, 35-40 yaş arasında ise 6 ay sonra, 40 yaş üzerinde ise hemen araştırma ve testlere başlanabilir. İlk olarak ovulasyonun olup olmadığı belirlenir. Vajina, servikal kanal, uterus kavitesi, tuba uterinanın morfolojik ve fonksiyonel olarak normal olup olmadığı araştırılmalıdır. (Seher, 2019)

Hastanın özgeçmişine bakılırken ilk adet tarihi, menstrüasyon periyodu, intermenstrüel kanama, primer veya sekonder dismenore gibi bilgileri sorgulanmalıdır. Ovulatuar faktörlere yönelik öykü bize çok şey anlatabilir. Düzenli bir adet öyküsünün olması büyük ihtimalle ovulasyonun gerçekleştiğini gösterir. Aynı zamanda kadının sahip olduğu hormonal durum ve endometrium hakkında da bilgi verir. Hastanın adet görmesinin düzensiz olması halinde, akne, vazomotor ve hirsutizm, şikayetlerinin olup olmadığı incelenir. Daha önce gebelik gerçekleşip gerçekleşmediği, önceki gebelik sonucu, tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olup olmadığı sorgulanmalıdır. Daha önceden hastanın yaşadığı gebelik veya düşük durumları kadının genital organlarının yapısı hakkında bilgi içerir. Buna ilave olarak infertilite nedenleri arasında gebelik ya da düşük sırasında yaşanan komplikasyonları da sayabiliriz. Herhangi bir doğum kontrol yöntemi kullanıp kullanmadığı hasta eğer doğum kontrol yöntemi kullandıysa hangi yöntemle ne kadar süre ile korunduğu sorup not edilmelidir. Hastanın ailesinde benzer durumu olup olmadığı eğer varsa; erken yaşta menopoza, hipertansiyon, şeker, galaktore, tiroid disfonksiyonu, meme kanseri gibi durumların olup olmadığı sorgulanmalıdır. Kadın ve erkeğin sigara kullanması fertilitiyi olumsuz etkileyebilir. Polikistik over sendromlu ve obezite sorunu yaşayan hasta bireylerde folikülogenezis ve folikül maturasyonunda sorunlar olmaktadır. Bundan dolayı anovulasyona bağlı infertilite problemleri hastaların yaklaşık yarısında karşılanmaktadır. Jinekolojik muayenede vajinal akıntı, servikal hassasiyet olup olmadığına bakılır. (Seçkin,2019;Topçu et al.2017;Çağlar,2005) (The Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine,2000).

12 ay	6 ay	Hemen
< 35	≥35 yaş	≥40 yaş
Ek risk faktörü yok	Ek risk faktörü yok	Olgomenore/amenora Persiste eden seksüel disfonksiyon PID Endometriosis KT, RT Bilenen erkek faktörü Erkeğin anabolik steroid kullanımı Geçirilmiş genital cerrahi(kadın ve erkek için)

Tablo 1: İnfertil olan çiftlerin değerlendirmesi öncesi optimum bekleme süresi (Topçu et al., 2017)

Kadının yaşı infertilite çok önemli bir etkidir. Yaşın ilerlemesi ile birlikte over rezervi ve kalitesi, tedaviye yanıtı gibi etkenler infertilite tedavisinin başarısı etkilenmektedir. 25-29 yaş arasındaki kadınlarda fertilité %4-8 iken; 30-34 yaşlarda %15-19, 35-39'da %26-46, 40-45 yaş arasında ise %95 oranında azalma olduğu gözlemlenmiştir. (Maroulis,1991)

Hikaye	Fiziki Muayene
İnfertilite süresi	Boy ve kilo(vücut kitle indeksi)
Menstral düzen	Tiroid bezi değerlendirmesi
Koît sıklığı	Meme özelliklerinin değerlendirilmesi
Seksüel disfonksiyon	Transvajinal USG ile muayene
Galaktore	
Hirsutizm	
PID öyküsü	
Alkol ve sigara kullanımı	

Tablo 2: Kadın hastaların incelenmesinde hikaye ve fizik muayenesi (Seçkin,2019)

Kadın infertilitesinde en sık görülen nedenler ovulatuvar bozukluk olarak söylenebilir. Kadınlarda infertiliteyi etkileyen faktörler arasında ovulatuvar faktör, endometriozis, tubal faktörler ve pelvik adezyonlar, uterin faktörü sıklıkla görmek mümkündür. Bu etkenler tüm kadın infertilitesi nedenlerinin %81'ini kapsamaktadır.

2.3.1.1.Ovulatuvar Faktör

Kadınlara ait infertilite nedenlerine bakıldığında büyük bir öneme sahip olan ovulatuvar faktörler, kadınsal hastalıkların %40'lık gibi büyük bir oranda karşımıza çıkmaktadır. Ovulatuvar faktör; anovulasyon, amenore, oligoovulasyon, polikistik over sendromu ve luteal faz yetmezliği overlere ait faktörleri oluşturmaktadır. (Statement 2014;Guideline 2012)

2.3.1.2.Endometriozis

Endometriozis, endometrial dokunun intrauterin kavite dışında herhangi bir yerde gelişmesidir. Ektopik endometrium dokusu genellikle pelviste yer almakla birlikte bazen vücudun herhangi bir yerinde de görülebilmektedir. İnfertil hastalarda, fertilitesi normal kadınlara göre endometriozis prevelansı belirgi bir halde daha yüksektir. Reprodüktif dönemde ise kadınların endometriozis prevelansı %1-6 arasında değişmektedir, infertilite tanısı alan kişilerde ise %20-50'sinde endometriozis ile karşılaşılır. Bu konu ile alakalı patogenezinde retrograd menstruasyon ve implantasyon, çöломik metaplazi, direk olarak transplantasyon ve vasküler disseminasyon gibi birçok mekanizmadan bahsedilmiştir. Ancak hiçbir mekanizma tek başına hastalığı açıklamaya yetmemektedir. Pelvik adezyonlara sekonder anatomik bozukluklar, artan sitokin ve büyüme faktörleri sebebiyle ovulasyon, fertilizasyon ve implantasyon sürecinin bozulması bazen uzaması, endometriomanın ovaryan dokular üzerinde bıraktığı hasar ve cerrahi müdahaleler sonrası ovaryan doku hasarı gibi birçok etken sebebiyle infertilite etkili olmaktadır. İnfertilite aynı zamanda endometriozisin derecesiyle de ilişkilidir, hafif ve orta dereceli endometriozis varlığında IVF-ET tedavisinde gebelik oranlarını olumsuz etkilemediği bilinmektedir. Bunu aksine ileri derecede endometriozis varlığında ise kadınlarda gebelik oranları, toplanan oosit

sayıları ve implantasyon oranlarının düştüğü, düşük riskinin ise arttığı bilinmektedir. (Öztürk, 2021; (Demirci & Kızılkaya Beji, 2017))

2.3.1.3.Tubal Faktörler ve Pelvik Adezyonlar

Dişi ve erkek üreme hücrelerinin normal transportunun bozulması sebebiyle tubal oklüzyonlar ve pelvik adezyonlar infertiliteye yol açabilir. Kadın infertilite nedenlerinden tubal faktör %25 ile %30'unda karşımıza çıkar. Tubal faktörün en sık nedeni gonoreenin ve klamidyenin yol açtığı pelvik enflamatuvar hastalıklardır. Diğer tubal faktöre yol açan etkenler arasında ciddi endometriozis, geçirilmiş cerrahi ya da non-tubal enfeksiyonları, sekonder adezyonlar, pelvik tüberküloz ve fallop tüp divertikülü sayılabilir. Distal tubal oklüzyon hidrosalpenkse yol açarak İVF tedavi başarısını olumsuz etkileyebilir. Hidrosalpenks, sperm migrasyonunu bozarak, tubal içeriğinin retrograd regürjitasyonuna neden olur böylece embriyo implantasyonunu ve fertilizasyonu azalır. Hidrosalpenksin varlığı gebelik oranını azaltır ve dış gebelikleri artırır. Tedavi türünden bağımsız olarak hidrosalpenksin tedavisi gebelik şansını artırdığı bilinmektedir. İVF-ET tedavisinden önce distal hidrosalpenksin tedavi edilmesinin gebelik oranlarını artırdığı düşünülmektedir. (Öztürk, 2021)

2.3.1.4.Uterin Faktör

Uterin faktörler kadın fertilitasını, mekanik distorsiyon veya endometrial reseptivitenin azaltılması şeklinde etkilemektedir. Bazı uterin faktörler; konjenital uterin anomaliler, intrauterin sineşiler, uterin leiomyomlar ve endometrial polipler olarak söylenilebilir.

Uterin anomaliler infertiliteyi etkilemekten daha çok tekrarlayan gebelik kaybına neden olmakla birlikte, uterusunda oluşan bazı anomalilerde infertilite sebebi olarak da görülmektedir. Bu anomalilerin infertiliteyi etkileme ihtimali %5 olarak bilinmektedir. Uterin faktörlerde oluşmuş gebeliklerin %25'i kaybedildiği görülmekte fakat gebelik oluşmasını az oranda etkilemektedir. Polipler, miyomlar, rahim içinde görülen

yapışıklıklar, enfeksiyonlara bağlı olarak gelişen hastalıklar embriyonun gelişimini ve implantasyonunu olumsuz yönde etkileyerek infertiliteye neden olduğu bilinmektedir. (Çavuşoğlu 2015;Berek 2004;Hotun-Şahin ark. 2009;Öztürk, 2021)

2.2.2.Açıklanamayan İnfertilite

İnfertilite nedenleri araştırılırken yapılan tetkikler sonucunda, erkek ve kadın için yapılan tüm test ve araştırmalara rağmen herhangi bir neden bulunamayabilir. Erkek bireylere ait sperm parametreleri ile ilgili testler, kadın hastaların ovulasyon takibi ve testleri, fiziki muayene sonucunda değerlendirilirken ortaya herhangi bir anormallik çıkmaz ancak buna rağmen çiftlerin çocukları olmayabilir. Bu tanının konulduğu vakalarda oosit ve sperm fonksiyonlarında bozulmalar, embriyo gelişiminde aksama, fertilizasyon başarısının normalden düşük olduğu araştırmalarla ortaya konmuştur. Gerçek açıklanamayan infertilite vakalarının tanısının konması tedavi ve yaklaşımda en kritik aşamadır. (Emrah, 2019)

Bu vakalarda tedavi yöntemleri ve şekilleri, maliyeti, oluşturacağı risk durumu ve etkinliği hastalar için farklı adımlar tercih edilebilir bu aşamalar yapılırken hastanın durumu ve güvenliği açısından dengelenmelidir. Bu sebeple planlama yapılırken tedavilerden daha karmaşık ve spesifik doğru akılcı yaklaşım belirlenmelidir. Birinci adım ekspektan kalmak olarak belirlenebilir. Bu şekilde sadece bekleme ile aylık fekundite oranı çiftlerde %1-3 oranında tespit edilmiştir. tedavide en belirleyici unsur kadın partnerin yaşıdır. Over rezervi normal olan bireyler değerlendirildiğinde ve kadın 32 yaşında ve ya daha küçük bir yaşta olan açıklanamayan infertil çiftlerde ekspektan yaklaşımı yapılabilirken, kadının yaşı 37 ve üstü olduğunda aylık konsepsiyon ihtimali %1'in altında olduğunda bu yöntem uygulanmamalı ve başka bir tedaviye geçilmesi daha uygun görülür.

Düşük maliyetli ve hasta odaklı tedavi yaklaşımları başlangıç olarak ele alınmalıdır. Genel olarak bu hastalara yaşam şartlarında ufak bir değişiklikler ve eşlere düzenli

ilişki önerilmesidir. Aynı zamanda hastanın sigarayı bırakması, vücut kitle endeksini düşürmesi, kafein ve alkol tüketiminin azaltılması önerilmektedir. Bu işlemlerden sonra maliyeti daha yüksek olan tedavi aşamaları tercih edilebilir. Klomifen sitrat (CC) + intrauterin inseminasyon (IUI) veya Letrozole + IUI bunların başlıcalarıdır. (Doğan & Ata, 2018)

Açıklanamayan infertilite de tedavi yöntemi, nedeni çözmeye yönelik olarak değilde daha çok fertilité şansını artırmak üzerine yoğunlaşmıştır. Tedaviye, en basit ve risk durumu en düşük olan basamaklardan başlanılır. Sonucun istediğimiz gibi gitmediği durumlarda ise adım adım daha geniş kapsamlı yardımcı üreme tekniklerine geçilir.(Özçini, 2018)

2.2.3.Erkek İnfertilitesi ve Nedenleri

Kadın üreme sistemi erkek üreme sistemine göre daha karmaşık bir yapıya sahip olması nedeniyle erkek infertilitesi, kadın infertilitesine göre daha kolay araştırabilir. (Çağlar, 2005)

Erkek infertilitesindeki başarı indirekt olarak kadının gebe kalması ile ölçülür. Erkek infertilitesi, primer ve sekonder olmak üzere iki ana grupta incelenmektedir. Primer erkek infertilitesi; hayatında hiç çocuk sabihi olamamış, bir kadını gebe bırakma ihtimali olmayan bireyler için kullanılmaktadır. Bu grubun bir alt grubu ise gebelik elde edilmiş olup canlı çocuğu olmayan hastalardır. Bu kadın faktörünüde etkileyebilir. Sekonder erkek infertilitesi ise geçmişte en az bir çocuk sahibi olan bireyler için kullanılmaktadır. Bu gruptaki erkeklerde genellikle konjenital bozukluklar ve oligozoospermiye çok fazla rastlanmaz. Daha çok enfeksiyon, travma, toksit etkenler gibi nedenler sıralanabilir. (Yaprak,2019;Çiçek,2008)

Erkek hastayı değerlendirirken detaylı bir tıbbi üreme öyküsü alınması ile başlanmalıdır. Hastanın öykü alınırken infertilite olgularının dörtte birini tanı konulabilir ve prognoz tayini yapılarak infertil çift yönlendirilebilir. Öykü alırken çiftlerin ikisi birden değerlendirilmesi gerekir. Hastanın ayrıntılı öyküsünde; cinsel yaşam hikayesi, çocukluk döneminde geçirilen hastalıkları, kullanılan ilaçlar, testiküler enfeksiyonlar, gelişimsel bozukluklar, geçirilmiş hastalıklar ve operasyonlar, yaşadığı travmalar, alışkanlıkları, aile soy öyküsü öğrenilir. Hastaya testis ile ilgili operasyon geçirip geçirmediği sorulmalıdır. Bunların yanında hastanın sigara ve alkol tüketimi, kafein tüketimi, ilaç kullanıp kullanmadığı, kullanıyorsa ne sıklıkla kullandığı sorgulanmalıdır. Cinsel ilişkide ki sıklık, zamanlama, libido kaybı, erektil bozukluk, ejakulasyon sorunları, önceden evlilik yaşandı ise o evlilikten çocuğun olup olmadığı bilgileri öğrenilmelidir. Koit sıklığı ve zamanının sorgulanması basit ama önemli bir detaydır. Seyrek koit potansiyel fertilizasyon zamanının kaçırılmasına neden olabilir. (Dr.Gonca, 2017; Karakaş, 2015; Serdar, 2004; Topçu Et Al., 2017; Seçkin,2019)

Tıbbi öyküsü alındıktan sonra hasta detaylı fiziki muayene, semen analizi ve hormon (FSH, LH, Prolaktin, Testeron, TSH) parametrelerine bakılıp, her açıdan değerlendirilmelidir. Eğer yine gerek duyulursa sonrasında endokrinolojik, ultrasonografik, genetik incelemeler yapılabilir.(Seher, 2019)

Bir ürolog veya bu konuda uzman olan bir kişi tarafından yapılan fiziki muayene ve semen analizi gereklidir. Bunların yanında basit laboratuvar testlerinin sonuçları incelendikten sonra infertilite etiyojisine göre daha spesifik testlere yönlendirilerek tanıya gidilebilir. Bu testlere ek olarak ejakulat semen analizi, hormonların değerlendirmesi, tam idrar analizi, ultrasonografik değerlendirme , semen ve spermle ilgili özel testler ve genetik tarama olarak testlerine de bakıp değerlendirilebilir.. Elimizde hastanın birçok test sonucu bulunmasına karşın tanı koymak için hepsini kullanmak gerekemeyebilir. (Dr.Sedat, 2013; Karakaş, 2015)

Fizik muayenede ayrıca genital muayenenin yanında tiroid bezinin çalışması ve jinekomasti açısından meme muayenesi de olmalıdır. Semen analizi ejakulatın değerlendirilmesidir. Hastanın semen parametrelerinin kalitesi azaldıkça gebelik şansıda azalmaktadır. Bu nedenle doğru bir spermiogram infertil çiftin değerlendirilmesinde çok önemli bir adımdır. (Güçtaş Ahmet Özgür, 2006;Çağlar,2005)

Erkek infertilitesi incelenirken değerlendirilmede kullanılabilecek en önemli hormonlar; luteinizan hormon (LH), folikül uyarıcı hormon (FSH) ve testosterondur. Folikül stimüle edici hormon (FSH); temel olarak sertoli hücrelerinde etkili olan bir hormondur ve testosteronu etkiler. LH hormonu; interstisyel hücreleri üzerinde etkiye sahiptir. Leydig hücreleri üzerine etki ederek testosteron yapımını uyarır. Sertoli hücreleri de FSH gibi testosteron hormonu etkileyerek spermatogenezi uyarır. Erkeklerde bulunan sekonder seks karakterlerinin oluşmasını sağlayan testosteron hormonun ayrıca, periferel dokularda dihidrotestosterona dönüştüğü bilinmektedir.

Dopamin, hipofiz bezinden sekrete edilen prolaktinin üretimini inhibe eder. Prolaktin ayrıca, TSH (tiroid stimulan hormon) tarafından artırılmaktadır. Prolaktinin doğrudan spermatogenezis üzerine etki etmediği düşünülse de kronik hiperprolaktinemisinin GnRH etkisini değiştirdiğide bilinmektedir. Bu gibi durumlar, FSH ve LH'ın sekresyonunun değişmesine neden olmakta ve libido düşüklüğü, cinsel işlev bozukluğu, jinekomasti ve spermatogenez bozukluğu gibi değişikliklere neden olmaktadır. Erkek endokrin profili (FSH, LH ve testosteron) normal semen analizi olan erkeklerde gerekli görülmemektedir. Sperm yoğunluğu 10×10^6 hücre/ml altında olsa bile doğal konsepsiyonun olduğu görülmüştür. Ayrıca, sperm konsantrasyonu 5×10^6 hücre/ml ve biraz daha üzerinde olan hastaların belirgin olarak düşük fertilitite oranlarına sahip olduğu bilinmektedir. Hormonal durumu bu nedenle şiddetli oligozoospermi ve azoospermik olan hastalarda hakkında bize yardımcı olabilir.(Kilciler, 2009)

Erkek İnfertilitesinin Nedenleri;

2.2.3.1.Varikosel

Varikosel yaşın ilerlemesi ile birlikte erkek infertilitesinin en sık rastlanan ilerleyici testis hasarı ile seyreden ve cerrahi müdahale ile düzeltilebilen bir hastalıktır. Varikosel, testiste yaşanan ağrı, testis gelişiminde gerileme ve spermin normal değerlerini bozarak infertilite nedeni olabilir. Varikoselin infertilite üzerine etkileri olarak semen anomalileri (sperm sayısında azalma, motilite ve morfolojide bozulma), testis hacminde ve Leydig hücre fonksiyonunda yaşanan azalmayla ilişkilendirilebilir.

Varikosel spermatik kordların içindeki testiküler damarların anormal şekilde genişlemesi ve kıvrımlar oluşturması sonucu oluşur. Sağlıklı erkek popülasyonunun %15'inde, infertilite şikayeti ile başvuran kişilerin %40'ında karşılaşılan bir durum olarak karşımıza çıkar. Bu vakaların büyük bir bölümü sol tarafta karşımıza çıkar. Ayrıca çocuğa sahip olup tekrar çocuk sahibi olmak isteyen fakat başarı sağlayamadığı için hastaneye başvuru yapan erkek hastalarda yapılan tetikler ve testler sonucunda büyük bir bölümünde varikosele rastlanmıştır.(Fatma, 2016;Demirci & Kızılkaya Beji,2017)

2.2.3.2.Anatomik Bozukluklar

Erkek infertilitesinde anatomik olarak kriptorşidizm, hipospadias, konjenital ductus deferens yokluğu ya da obstrüksiyonu ve ejakülatuar sistemin anormallikleri gibi konjenital anomalilere sebep olabilir.

Kriptorşidizm(inmemiş testis) erkek genital organlarından en sık görülen konjenital anomali yenidoğan çocukların %2-5' inde görülürken, doğumdan sonraki 3 ay içinde insidans 1-2'ye düşer. Testislerden biri ya da her ikisinin skrotumda bulunmamasıdır. Normal spermatogenezin meydana gelebilmesi için intra abdominal gelişen testislerin normal vücut ısısından daha serin bir ortam olan skrotuma 8.ayında inmesi gerekirken

bu kişilerde inguinal kanal ve karın içi gibi sıcak bir ortamda kalırlar ve bu nedenle spermatogenez bozulur.(Fatma, 2016)

2.2.3.3.Endokrin Bozukluklar

İnfertilite tedavisi için doktora başvuran bireylerdeki endokrin bozukluk diğer popülasyondaki erkek bireylere göre daha yaygın olarak karşımıza çıkar. Hastalarda normal dışındaki semen değerleri görüldüğünde FSH, LH ve testosteron hormonlarının taraması ile sınırlı tutulabilir. (Dohle et al 2010b;Fatma,2016)

2.4.SEMEN ANALİZİ

Erkek infertilitesinden şüphelenilen durumlarda hastanın üreme kapasitesinin ön görmek için yapılan değerlendirmedir ve diğer klinik analizlere benzemez. Bu işlem androloji laboratuvarında sperm ve semenin özelliklerinin belirlenmesinin sağlayan bir test yöntemidir.(Can, 2018)

Semen analizinin en kritik kısım spermi laboratuvar koşullarında incelemektir. Semen analizinde makroskopik inceleme ve mikroskopik inceleme olarak iki yönlü olarak değerlendirilir. Makroskopik açıdan incelenirken; spermin görünümü, semen volümü ve PH ölçümü, likefaksiyon süresi ve viskozitesine bakılır. Mikroskopik incelemede ise spermin sayısının, morfolojisinin, hareketliliğinin, aglütinasyonu ve sperm olmayan hücreler değerlendirilir. Ayrıca spermin kuyruk yapısı, görünüşü ve fonksiyonel bütünlüğüne de bakılır.(Seçkin, 2019)

Semen analizi incelenirken iki veya daha fazla tekrarlanması daha sağlıklı sonuçlar verecektir. Verilen örnekten en az iki kere örnek alınıp sayım yapılmalı, alınan sayım sonuçları birbirine uyumlu olduğunda ortalaması hesaplanmalıdır. Semen analizinin kalitesi iç veya dış etkenlere bağlı olarak çok değişiklik gösterir.

Hastanın fertilitesi değerlendirilirken erkeğin sperm kalitesini tek bir semen numunesi ile belirlemek mümkün değildir. Daha sağlıklı veriler elde edebilmek için Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine uygun olarak alınmış birden fazla örnek numune incelemek gerekir. Çünkü spermatogenez olayı ortalama 70 günlük bir süreç için olmaktadır. Bu süre içinde epididimisteki spermin olgunlaşması ve taşınması için gereken 12-21 günlük süreyi kapsamaktadır. Yakın zamanda geçirilmiş ateşli bir hastalık ya da ilaç kullanımı 3 aya kadar semen kalitesini bozulmasına sebep olabilir. Bu olumsuzlukları ekarte etmek daha sağlıklı bilgi edinebilmek için 2-3 ay sonra tekrarlanması önerilmektedir. Bu nedenlerden dolayı en az 3 , en fazla 7 gün cinsel perhiz uyguladıktan sonra 6-8 hafta içerisinde iki veya üç kez semen analizi alınmalı ve semen yapısı bozulmaması için en geç 1 saat içinde analiz edilmelidir.(Çağlar, 2005; Kadioğlu Prof.Dr. Ateş Kendirci Et Al., 2010)

Semen analizi sonucunun sağlıklı olabilmesi için cinsel perhiz süresi en önemli faktörlerden bir tanesi olarak bilinmektedir. Bu sürenin kısa olması sayı ve volümü olumsuz etkilerken, uzun olması ise hareketliliğini etkilediği bilinmektedir. (Prof.Dr.Yaprak & Doç.Dr.İnci, 2019)

Hasta semen örneğini verdikten sonra ejakülatın çözünmesi, sıvılaşarak viskozite durumunun azalmasına likefaksiyon denilir. Likefaksiyonu kolaylaştırmak için alınan numune 37 °C 'de 30 dakika bekletilmelidir. Likefaksiyon için geçen sürenin artması semenin kalitesinin iyi olmadığını düşündürülebilir. Semen içinde yer alan seminal veziküle ait sıvılar koagülasyondan, prostat kaynaklı proteolitik enzimlerde çözünerek likefiye olmasından sorumludur. (Prof.Dr.Yaprak & Doç.Dr.İnci, 2019)



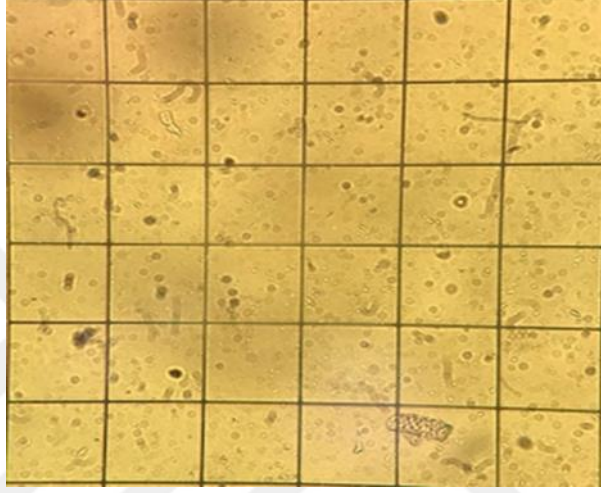
Resim 1: Sperm Sayım Kamarası

Spermiogram öncesinde hastanın uykusuzluk durumu, alkol kullanımı ve gribal enfeksiyon gibi durumlar sonucu etkileyebileceği için bu durumlara dikkat etmelidir. En ideal olan semen örneğinin izole edilmiş bir ortamda, klinik laboratuvara yakın bir ortamda sperm için toksin içermeyen cam veya plastikten yapılmış geniş ağızlı bir toplama kabıyla verilmesi gerekir.



Resim 2. Işık Mikroskobunda ile Sperm Sayım Kamarası

Semen analizi sonucunda kullanılan referans değerleri, genellikle yeterli olacak minimum seviye şeklinde tanımlanmaktadır. Bu seviyelerin altındaki değerler infertilite tanısını ortaya çıkarmaktadır. Fakat řu ayrıntıda unutulmamalıdır. Referans değerlerinin altında olup fertil olan bireyler olduğu gibi referans değerlerinin üstünde infertil erkekler olabilir. Semen hacmi referans değeri en düşük 1,5 ml olarak bilinmektedir. Semen referans değişiklerini tanımlamak için sayılar yerine genellikle bir terminoloji kullanılmaktadır. (Demirci & Kızılkaya Beji, 2017)



Resim 3: Sperm Hücreleri

Semen örneği incelenirken hücrelerde aglütinasyon olup olmadığına dikkat etmek gerekir. Hareketli sperm hücrelerinin farklı bölgelerinin yan yana gelerek yapışmasına bir araya toplanmasına aglütinasyon denilir. Bu durum gözleniyorsa immünolojik etkenlerin varlığı düşünülebilir. Aglütinasyon saptanan semen örnekleri raporlanmalı ve ileriki aşamalarda sperm antikor tayini yapılması önerilmektedir. (Prof.Dr.Yaprak & Doç.Dr.İnci, 2019)



Resim 4 : Fonik tüp

DSÖ'nün 2010 yılına göre sperm parametrelerinin referans aralıkları tabloda verilmiştir.

Parametre	Referans değerler
Ejekülat hacmi	1.5 ml
pH	7.2
Sperm konsantrasyonu	15×10^8 spermatozoa/ ml
Total sperm sayısı	39×10^4 spermatozoa/ ejekulat
Motil oranı	%40
İleri hareketli	%32
Normal morfoloji	%4 normal
Sperm aglütinasyonu	Yok
Vizkozite	< 2 cm likefikasyon sonrası

Tablo 3: DSÖ verilerine göre semen analizi(2010)

WHO'nun belirlediği kriterlere göre sperm analizi terminolojilerinin tanımları ve nedenleri:

Aspermi: Bireyde hiç ejakülat bulunmaması olarak açıklanabilir. Aspermi nedenleri olarak vasküler nedenler, retrograd ejakülasyon, hormonal etkenler bulunmaktadır.

Hipospermi: Bireyin ejakulat hacminin 1,5 ml'den daha az olması halidir. Nedenlerine bakıldığında seminal vezikül ve duktus deferensin enfeksiyonu, prostat, travma ve tümörleri; androjen hormonu eksikliği, ejakülatör kanalların tıkanması ve retrograd ejakülasyon söylenilebilir.

Oligozoospermi: 15 milyon/ml' den az sperm sayısının bulunmasıdır. Oligozoospermi idiyopatik nedenlerden kaynaklı olabilir. Ayrıca sistemik enfeksiyonlar, inmemiş erbezi, ilaçlar, kronik sistemik hastalıklara veya kromozomal anomali sonucunda da ortaya çıkabilir.

Astenozoospermi: Spermatozoa' nın <%40 oranında ileri ve hareketli olması ya da <%32 oranında ileri hızlı hareketli olması durumudur. Bu durum enfeksiyon veya konjenital nedenlerle, ilaç kullanılması, ısı sebebiyle ortaya çıkabilir.

Teratozoospermi: Normal spermatozoa morfolojisinin <%4 oranında olması durumudur. Teratozoosperminin oluşma nedenlerine bakıldığında toksik maddeler, kromozomal anormallikler, seminal kanallarda deformasyon ve epididimde oluşan enfeksiyonunlar sayılabilir.

Astenoteratozoospermi: İleri hareketli spermelerin morfolojik yapısı ve motilitesi incelendiğinde her ikisinde normal standartların altında olması durumuna denir.

Oligoastenoteratozoospermi: Spermilerin sayısının, motilitesinin ve morfolojik yapısının incelemesi sonucunda bu üç kriterinde alt referans değerinden düşük olmasıdır.

Nekrozoospermi: Bu, ejakülat incelenirken canlı sperm yüzdesinin düşük, ölü sperm yüzdesinin yüksek olduğu durumlar olarak açıklanabilir. Bunun nedeni idiyopatik sebepler olabilir; ayrıca toksik maddelere maruz kalmaktan, kartagener sendromundan ve seyrek cinsel ilişkiden de kaynaklanabilir.

Hiperspermi: Ejekulat hacminin normalden fazla olması durumudur.

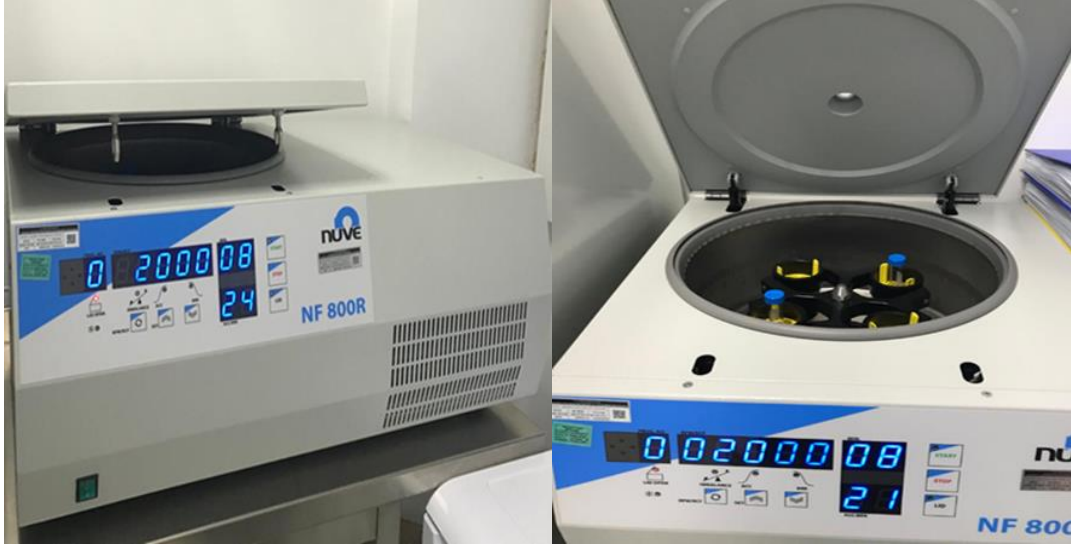
Hematospermi: Ejekulatta eritrositlerin bulunması durumudur.

Normozoospermi: Ejekulattaki sperm hücrelerinin canlı, sağlıklı ve hareketli olduğu normal referans değerlerinde olması durumudur. (Bozkırlı, 1999; Kadioğlu Prof. Dr. Ateş Kendirci Et Al., 2010)

Bu terminolojide oligozoospermi, astenozoospermi ve teratozoospermi sırasıyla konsantrasyon, hareketlilik ve morfolojinin referans limitlerinin altında olduğu durumları ifade eder.

Azospermi: semenin mikroskopik olarak incelenmesi sonucunda motil ve immotil spermin hiç görülmemesi anlamına gelmektedir ve erkek bireylerin %1' inde, infertil tedavisine başvuran erkek bireylerin ise %10-15' inde karşımıza çıkar. Daha önceki yıllarda azospermi teşhisi konulan hastaların çocuk sahibi olması imkansız gözüyle bakılırken YÜT'lerinin ve özellikle ICSI yöntemi uygulamaya girmesi ile bu ihtimal mümkün hale gelmiştir. (Arif, 2020; Çelik, 2011)

Hastadan alınan semen örneği dakika 3000 devir hızda 15-20 dakika boyunca santrifüj edilir ve homojen bir hale geldiğinde incelenir. Bireyin azospermi olduğu tanısının doğrulamadan önce en az iki kez ayrı ayrı santrifüj edilmiş semen örneği incelenmelidir ve bunun sonucuna göre yorum yapılmalıdır. Azospermiye sebep olan kriterler arasında genetik bozukluklar, germinal aplazi, hormonal değişiklikler, bilateral ductus deferens yokluğu ve ejakülatör kanal tıkanıklığından söz edilebilir. (Arif, 2020)



Resim 5 : Santrifüj Cihazı

Azospermik olguları ikiye ayırmak mümkündür. Obstrüktif azospermide sperm hücrelerinin üretimi normal iken spermin taşınması proksimal ya da distal ejakülator kanal obstrüksiyonu nedeniyle kesintiye uğramıştır. Non-obstrüktif azospermide ise sorunun kaynağı primer testiküler yetmezlik, hormonal patolojiler, genetik anomaliler neden olabilir.

Proksimal ya da distal ejakülator kanallarda meydana gelen bilateral obstrüksiyon nedeniyle semende ve ejakülasyon sonrası yapılan idrar analizinde sperm ya da spermatogenik hücre bulunmaması obstrüktif azospermiyi tanımlamaktadır. Azospermi hastalarında non-obstrüktif azospermi daha sık olarak karşımıza çıkmakla birlikte, obstrüktif azospermi oranı %15-20 olarak görülmektedir. (Çelik,2011)

2.5. SPERM ELDE ETME YÖNTEMLERİ

Tedavide kullanmayı düşündüğümüz spermin normal bir morfolojisi, kapasitasyon yeteneği ve daha da önemlisi normal DNA yapısına sahip olmalıdır. Hastaneye tüp

bebek tedavisi için başvuru yapan hastaların spermelerinde diğer erkek hastalara göre DNA hasarı görülme olasılığı çok daha fazladır. Bu nedenle ICSI işlemlerinde kullanılan spermelerin, uygun kalitede olması tedavi için çok daha fazla önem taşımaktadır. Kalitesi yüksek olan spermelerin tercih edilmesi için geliştirilmiş ve hatta geliştirilen yeni yöntemler kullanıldığı gibi hala klasik yöntemlerde kullanılmaya devam edilmektedir. Bu metotların bazıları belirli hasta gruplarında tercih edilirken bazıları ise yaygın olarak kullanılmaktadır. Metod seçiminin hastaya ve tedaviye göre yapılması durumunda ortaya çıkacak sonuçlar çok daha yüksek olacaktır. (Doğan & Ata, 2018)

Yardımcı üreme tedavilerinde başarı elde edebilmek ancak kaliteli gametlerin seçilmesi ile mümkün olabilir. Erkek hastadan alınan kaliteli üreme hücreleri de yumurtalar kadar önemlidir.

İnfertilite nedenleri araştırılırken sperm sayısının düşük olması, morfolojik ve hareket bozukluklarının olması ya da hiç spermin olmaması gibi durumlarda cerrahi olarak spermelerin toplanması gerekebilir. Bu durumlarda yardımcı üreme teknikleri için testis dokusundan sperm etmek için farklı yöntemler kullanılır.

2.5.1.Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu (PESA)

PESA yöntemi ilk defa Craft ve arkadaşları tarafından ICSI uygulanacak hastalar için kullanılmıştır. Bu işlem özellikle konjenital vaz deferens yokluğunda, vazektomi sonrası ve başarısız vazektomi sonrası sperm elde etmek için kullanılan bir yöntemdir. Genellikle lokal anestezi ile steril şartlar sağlandığında ince bir iğne yardımıyla skrotumdan girilip epididimislerden spermelerin aspire edilmesi işlemidir. Yöntemin hızlı, kolay ve ucuz olması bize avantaj sağlarken, bazı durumlarda yeterli materyal aspire edememesi ise dezavantaj olarak görülmektedir. Ayrıca testiküler sperme göre daha az kaliteli sperm elde edilmesinde dezavantajlarından biri olarak sayılabilir. Fakat araştırmalar epididimal ya da testiküler spermin fertilizasyon ve gebelik oranları açısından bir farklılık göstermediğini ortaya koymuştur. (Arif,2020;Prof.Dr.Yaprak & Doç.Dr.İnci, 2019;Çelik,2011)

2.5.2.Mikrocerrahi Epididimal Sperm Aspirasyonu (MESA)

MESA yöntemi ilk olarak Temple-Smith tarafından 1986 yılında yapılmıştır. Özellikle konjenital vaz deferens yokluğunda ya da vazektomi sonrası sperm elde etmede kullanılan bir yöntemdir. Genel anestezi altında mikrocerrahi uygulamaları kullanılarak mikropipetle epididimal tübüle girilmesi veya tübülün açılması ile buradan sperm aspire edilmesi işlemidir. Bu yöntem biraz maliyetinin yüksek olmasına karşın tüm skrotal alanda tarama yapılmasını mümkün kılar. İşlem sonrası hastanın dondurulup saklanacak kadar çok sayıda sperm elde edilebilir. (Arif, 2020; Demirci&Kızılkaya Beji,2017)

MESA işlemi lokal anestezi verilerek gerçekleştirilebilir. Binokülerli bir cerrahi mikroskop altında 2 ile 4 kat büyütme ile incelenebilir. Skrotum kesesinin yüzeyi ve katmanları kesilerek testis dışarı alınarak mikroskop yardımı ile tüm epididim gözden geçirilir. İnsizyon işlemi yapılır yapılmaz sıyan tüm sıvı, içinde kültür yıkama sıvısı olan bir ppd enjektörünün içine çekilir. Alınan sıvı örneklerinde mikroskop altında sperm hücresi aramaya başlanır.(Prof.Dr.Yaprak & Doç.Dr.İnci, 2019)

Bu yöntem testislerde gerçekleşen sperm hücrlerinin üretiminin normal olmasına karşın ductus deferenste kanal yokluğu, obstrüktif azospermide ve diğer düzeltilmemiş tıkalı vakalarda kullanılmaktadır. Enfeksiyon, travma, ameliyat ve diğer etkenlerden kaynaklanan epididim travması olan hastalarda bu yöntemle sperm hücresiyle karşılaşılması mümkün değildir.

MESA yönteminin TESA'ya göre önemli bir avantajı dondurma işlemi için bol sayıda spermin elde edilebilmesidir. Bu yöntem kullanılarak elde edilen spermelerin %60'a varan gebelik veya doğum oranları bildirilmiştir.(Arif, 2020; Demirci&Kızılkaya Beji,2017)

2.5.3. Testiküler Sperm Aspirasyonu (TESA)

Belker ve arkadaşları tarafından tanımlanan TESA spermatogenezin normal olduğu azospermi hastalarında lokal anestezi altında uygulanan sperm elde yöntemidir. Testislerde sperm üretimi gerçekleşmesine rağmen seminifer tübüllerin doğuştan yokluğu veya tıkanmasına bağlı boşaltım problemi olan hastalarda testislerden iğneyle doku aspirasyonu gerçekleştirilmesi işlemidir. Bazı girişimlerde sperm dondurma için alınan materyal yetersiz gelebilirken, genellikle IVF/ICSI için yeterli sperm elde edilir. TESA ile obstrüktif azospermi teşhis edilen hastalarda özellikler tercih edilmesi gereken bir yöntemdir. Bazı durumlarda yeterli sperm elde edilememesi, hematoma ve damar yaralanma riski nedeniyle çok kullanılmayan bir yöntemdir. (İbiş, 2020)(Arif, 2020; Demirci&Kızılkaya Beji,2017)

2.5.4. Testeküler Sperm Ekstraksiyonu (TESE)

Erkek infertilitesinde semen sıvısında hiç sperm bulunmayan azospermik ve çok az sperm hücrelerine sahip olan ağır oligozoospermi hastalarda veya başarısız sonuçlanmış intrauterin inseminasyon (IUI) sonrasında uygulanan üremeye yardımcı bir operasyondur.

Testisten açık biyopsi yöntemi ile doku elde edilmesi ve dokudaki sperm hücrelerinin aranması olarak ifade edilebilir. TESE işlemi hastanın da razısı alınarak genel anestezi altında fibrozis ya da agenezi nedeniyle spermelerin alınamadığı koşullarda testis dokusundan biyopsilerle çıkarılan ya da daha büyük parçaların çıkarılmasıyla elde edilen dokudan sperm ekstraksiyonu yapılmasıdır. (Demirci & Kızılkaya Beji, 2017)

Sperm toplama yöntemlerinden MESA, TESA veya PESA işlemi uygun olmayan hastalarda ise direkt olarak TESE yöntemi tercih edilir. Alınan dokular, önce embriyoloji ve daha sonra androloji ve KRYO proseslerine tabi tutulur. (Ayşe, 2013)

TESE işlemi sırasında testis yapısı tamamen açığa çıkarılır ve epididim obstrüktif tüm açılardan incelenir. Seminifer tübüllerin bulunduğu alanlardan küçük doku parçaları alınır. Kültür sıvısı içerisinde bulunan seminifer tübüller mikroskop altında sperm varlığını incelenmek için embriyoloji laboratuvarına gönderilir. Bu işlemler yeni doku parçaları alınarak sperm bulana ya da kesin olarak bulunamayacağına kanaat getirilinceye kadar devam edilir. Gerekli görüldüğünde her iki testisten de doku parçaları alınır.

Alınan doku parçalarında sperm hücrene rastlanabilmesi için spermin seminifer tübüllerden iyice ayrıştırılabilmesi gerekir. Bu nedenle alınan parçalardan eritrositleri elimine etmek amacıyla yıkandıktan sonra stereomikroskop altında tübüller gözlenecek şekilde iyice parçalara ayrılır. Tübüllerin içerisinde bulunan hücreler ve spermier kültür sıvısına dökülür. Kültür sıvısına dökülen doku içeriği hazırlanan gradient solüsyonunun üzerine eklenerek santrifüj edilir. Testiküler dokunun ICSI işlemleri için hazırlanma aşamasında elimine edilemeyen hücreler; küçük yuvarlak spermatidlerden, spermierle benzer yoğunlukta ve büyüklükte bulunan eritrositler, lenfositlerden ayrıştırılması gereklidir. Bu işlem sırasında DGS yöntemi kullanılmakta ve istenmeyen hücre ve parçacıklarının uzaklaştırılmasında gayet başarılı bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Santrifüj sonrası üst kısım atıldıktan sonra gradient solüsyonlarının bulunduğu kısımlar farklı tüplere alınarak silika partiküllerinden arındırmak için sperm yıkama sıvısı ile yıkanır. İşlem bitiminde hazırlanan süspansiyon sperm varlığı açısından dikkatliye incelenir. (Prof.Dr.Yaprak & Doç.Dr.İnci, 2019)

2.6. YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ

1978 yılında ilk tüp bebek doğduktan sonra bu olay dünyada büyük bir ilgi uyandırdı ve bununla beraber, üreme endokrinoloji ve infertilite tedavilerinin yaygınlaşmasına ve

gelişmesine olanak sağladı. İlerleyen süreç içerisinde bilim insanları, doktorlar ve embriyologlar tarafından infertilite ve tedavi basamakları üzerinde büyük gelişmeler kaydedilmiştir. Gelişen teknoloji ile birlikte yeni yardımcı üreme teknikleri kullanılmakta ve her geçen gün çocuk sahibi olmak isteyen bireyler için gelişimsel önlemler alınmaktadır. (Van Steirteghem vd., 1993).

Yardımcı üreme tedavisinde esas amaç, en az yan etkiye sahip bir gebelik sonucunda sağlıklı bireylerin dünyaya gelmesidir. Bu uygulanmalarda da başarıyı etkileyen faktörler arasında; yumurta kalitesi ve sayısı, semen kalitesi, hastanın yaşı, infertilite süresi, daha önceki gerçekleştirilen tedavi sayıları ve yöntemleri, transfer edilen oosit sayısı ve kalitesi gibi birçok etken sayılabilir. Tüm faktörler değerlendirilerek çiftte çözüm olabilecek hem çift hem de ekip için en uygun tekniğin seçilmesi gerekir.(Özlem & Ebru, 2020)

Günümüzde başvuru infertilite tedavilerindeki en önemli konulardan birisi de azospermi olan erkek hastalardan sperm elde etmektir. Bu hastalardan; testis ve epididimden aspirasyon ile biyopsi işlemi için ufak parçalar alınarak sperm bulmaya çalışılır. Sperm örneği elde etmek için uygulanan bu teknikler, infertilite tedavisi gören azospermi olan hastalarının ICSI yardımıyla tedavi edilebilmesi için geliştirilmiştir. (Özlem & Ebru, 2020)

2. 6. 1. İntrauterin İnseminasyon (IUI)

İnseminasyon insanlık tarihinde çok eski olmasına rağmen modern infertil çiftlerde de ilk olarak başvuru tedavi olarak bilinmektedir. İntrauterin İnseminasyon (IUI) infertilite tedavisinde kullanılan diğer tüm yöntemlere göre en ucuz, en basit ve en invazif olması nedeniyle ilk olarak tercih edilen yöntemlerden birisidir. IUI çeşitli özel işlemlerden geçirilip hazırlanmış ve konsantre hale gelmiş spermelerin özel bir katateter yardımıyla kadının ovulasyon döneminde servikal kanaldan geçirilip uterin kaviteye bırakılması işlemidir. IUI için en önemli kriterler; ovulasyonun takviminin

doğru takip edilmesi, spermin en doğru yöntemle hazırlanması ve inseminasyonun zamanlanmasıdır. IUI işleminde esas amaç mümkün olduğu kadar sağlıklı ve kaliteli spermin fertilizasyon bölgesine yaklaştırmak ve gebelik ihtimalini arttırmaktır.

Bu tedavide, uygulanacak yöntemle göre semen sıvısı bir takım özel işlemlerden geçirilerek, toksitlerden arındırılmış, prostat ve seminal sıvılardan temizlenmiş mümkün olduğu kadar en iyi bir sperm materyal elde edilmeye çalışılır. Böylece hastada servikal, immünolojik vs. gibi faktörlere maruz kalmaması sağlanmış olur. (Gencel, 2019; Kılıçdağ Et Al., 2005; Özlem & Ebru, 2020; Demirci&Kızılkaya Beji,2017)

IUI işlemi sonucunda başarılı bir hamilelik gerçekleşmesi için iyi DNA'ya sahip, canlı bir spermatozoanın oositin içine hassas bir şekilde enjekte edilmesi gerekir. Bu işlem sırasında doğru spermi seçmek büyük önemlidir.

IUI yönteminin amacı, fallopi tüplerine ulaşmaya çalışan sperm sayısını ve fertilizasyon ihtimalini artırmaktır. Başarı şansı %10-25 olarak bilinmektedir. Kadın bireylerin yaşının artması başarıyı olumsuz olarak etkilemektedir.

Açıklanamayan infertilite varlığında, erkek faktörün olduğu hastalarda (oligozoospermi, astenozoospermi, düşük ejakülat volümü, sperm otoantikörleri) ilk uygulanan tedavi yöntemidir. (Aydın, 2017)(Özlem & Ebru, 2020)(Boyraz, 2013)

IVF yöntemi ile gebelik elde etme şansının IUI yöntemine göre daha yüksek olması nedeniyle, açıklanamayan ve hafif subfertil çiftlerde en çok üç siklus a kadar IUI yöntemi denenmeli ve başarı elde edilemiyorsa IVF yöntemine geçilmesi daha uygundur. (Çelik,2011)

2.6.2. İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI)

Yardımcı üreme tekniklerinden biri olan ICSI tekniğindeki gelişmeler erkek kaynakları infertilite konusunda büyük etkiler oluşturmıştır. Bu yöntemle ilgili olarak yapılan çalışmalar 1962 yılına dayanmaktadır. Ancak insan oositleri üzerine ilk ICSI uygulaması 1988 yılında gerçekleştirilmesine rağmen bu işlem embriyo transferine gidilememiştir. ICSI yöntemi kullanılarak gerçekleşen ilk gebelik 1992 tarihinde literatürlere geçmiştir.

ICSI yönteminde sperm konsantrasyonu düşük, sperm motilitesi düşük, sperm morfolojisinin anormalliği fazla olan erkeklerde veya ejakülatında sperm sayısı hiç olmayan hastalarda tercih edilen bir fertilitate yaklaşımdır. Bu hastalarda sperm motilitesi veya morfolojisi spermatozanın, yumurtanın dışındaki zona pellusidayı geçmesini sağlayamadığı durumlarda tercih edilir. Kullanılan bu teknik oositin fertilizasyonuna yardımcı olması için doğrudan yumurtanın plazmasına tek bir spermatozoon enjekte ederek embriyonun döllenmesini ve gelişmesini hedefler. Döllenme için kullanılan sperm, semen sıvısından ya da testis dokusundan aspirasyon vada ekstraksiyon yoluyla elde edilir. Doğal seleksiyonunun olmaması sebebiyle; başarılı bir gebelik gerçekleşmesi için iyi DNA'ya sahip, kaliteli canlı bir spermatozoanın seçilmesi gerekir. ICSI yönteminin kullanımı, erkek infertilitesinin tedavisi konusunda önemli bir adım olmuştur.(Dr.Şirin, 2017; Özlem & Ebru, 2020; Demirci&Kızılkaya Beji,2017)

Günümüzde ICSI yöntemini sadece erkek faktörlü infertilite durumunda ve azospermi teşhisi konulmuş erkek bireylerde yüksek başarılar elde edilmemiştir. Aynı zamanda oosit kriyoprezervasyonu gibi durumlarda da kullanımı söz konusudur. (Özlem & Ebru, 2020)

2.6.3. İn vitro Fertilizasyon (IVF)

Günümüzde en yaygın kullanılan YÜT'den biri olan IVF uygulamaları ilk zamanlarda şiddetli tubal hastalıklara çözüm için kullanılmaktayken zamanla erkek faktörüne,

açıklanamayan infertiliteye, endometriozise ve immünolojik faktörlü olan bireylere yardımcı olmak amacıyla gelişmesi sağlanmıştır. Bu yöntem günümüzde ise yalnızca infertilite için değil pek çok tedavi için tercih edilmektedir. Genetik distorsiyonlarını ilerlemeden daha embriyo aşamasındayken tanımlanması için “preimplantasyon genetik tanı” testinin uygulanmasına olanak sağlamıştır. (Çelik,2011; Leyla,2007)

Sperm değerlerinin önemli ölçüde düşük olduğu şiddetli erkek faktörü vakalarında ise evlilik yaşı ve kadının yaşı gibi etkenler göz önünde tutularak, tedavi seçiminde IVF yöntemine ağırlık vermek daha doğru bir tercih olacaktır. (Çelik,2011)

Bugün için IVF uygulamalarında %30 oranında canlı doğum oranı elde edilebilmektedir. IVF uygulamalarında da diğer birçok yöntemde olduğu gibi başarıyı etkileyen en önemli faktörlerden biri ileri anne yaşıdır. Yaşın artması ile birlikte ovaryan cevabın azalması, yumurta kalitelerinin bozulması, yumurtanın yeterli sayıda ve yapıda olmaması, folikül gelişimlerinde aksamalar ve oositlerde kromozomal anomali riskinin artışı ortaya çıkan olumsuzluklardır. (Leyla, 2007; Özlem & Ebru, 2020; Demirci&Kızılkaya Beji,2017)

IVF, laboratuvar koşullarında ovulasyon indüksiyonu sonrası overlerden toplanan oositlerin, in vitro ortamda sıvı medium içerisinde spermle bir araya getirilerek fertilize olması ile gelişen embriyonun uterus içerisine katater yardımıyla ultrason eşliğinde yerleştirildiği bir tekniktir.(Ali, 2016)

IVF – ET yapmak için beş aşama gereklidir:

1)Birden çok folikülün gelişebilmesi için hormonlarla stimulasyon tedavisi yapılır. Foliküllerin büyüme adımlarını takip etmek ve ne zaman olgun halde olduğunu tespit edip, toplanmasına karar vermek için bu aşamada hastaya hCG enjeksiyonu yapılmaktadır.

2) Yumurtaların toplanması, aspire edilmesi işlemi. Bu işlem için genellikle ultrason tekniği ile yapılmaktadır. Bazen laproskopide tercih edilebilir. Oosit toplanması yapılan hCG enjeksiyonundan 34-36 saat sonra yapılır.

3) Sperm örneğinin alınması, uygun yöntemlerle hazırlanması.

4) Seçilen uygun oositlerle sperm hücrelerinin laboratuvarda döllenenmesi.

5) Embriyoların uygun görüldüğünde rahime yerleştirilmesi. (Aytaç, 202)

IVF Tedavisinde Başarısızlığın Sebepleri;

IVF tedavisinde çeşitli nedenlerle başarısızlıklar ortaya çıkabilmektedir. Bu başarısızlıkların genellikle tam olarak sebebi bilinmemekle beraber:

1. Kadının yaşının ileri olması, azalmış ovaryum rezervi ve folikül hücrelerinin düzgün bir şekilde uyarılmaması,
2. Sperm hücresinin morfolojisi ve yapısı,
3. Yetersiz laboratuvar koşullarının yeterince iyi olmamasına ve bu durumun embriyo kalitesini negatif yönde etkilemesi,
4. Rahimin iç duvar yapısının embriyo yerleşimi için uygun ve hazır halde olmaması,
5. Rahime ait olarak doğuştan gelen veya sonradan ortaya çıkan tüplerde sıvı birikmesi veya enfeksiyon toplanması durumunda nedeniyle embriyonun rahime yerleşmesini engelleyebilir.

Ayrıca embriyo transferi işlemi sırasında ortaya çıkabilecek servikal kanal tramvası gibi nedenler embriyonun rahime tutunmasını engelleyebilir ve olumsuz sonuçlara yol açabilir. Ancak işlemin neden başarısız olduğunu çoğu zaman tam olarak açık açık ortaya konulamadığı durumu da unutulmamalıdır.

IVF Kimlere Önerilmektedir?

1. Erkek hastanın semen örneğinde normal yollarla gebe kalmaya yetecek kadar sayı ve morfolojide sperm hücresi olmaması durumunda,
2. Kadın 35 yaş altında olsa dahi yapılan testlerden sonucunda oosit rezervinin düşmeye başladığı belirlenmesi durumunda,
3. Kadın hastanın 38 yaşını doldurmuş ve korunmasız düzenli ilişkiye girmesine rağmen 6 aydır hamile kalamadıysa,
4. Endometriozis, tubal faktör, pelvik adhezyon, ovulasyon bozuklukları, polikistik over sendromunda, açıklanamayan infertilite, erkek kaynaklı faktörler ve immünolojik infertilite IVF'nin endikasyonları olarak sıralanabilir.

Bunların dışında; over rezervi normal olan ancak ciddi intrauterin yapışıklık, müllerian agenezi, histerektomi geçirme gibi rahim sorunları yaşayan çiftlerde taşıyıcı annelik sistemi ile kendi oositlerinden yapılan YÜT uygulayan kadınlarda gebelik görülmektedir. (Leyla, 2007; Özlem & Ebru, 2020; Ali, 2016)

2. 7. IVF TEDAVİSİ AŞAMALARI

IVF tedavisinin uygulamasını 4 başlık altında açıklayabiliriz. (Ali, 2016)

1. Basamak: Oosit Toplama İşlemi (OPU)
2. Basamak: ICSI-Fertilizasyon ICSI İşleminde
3. Basamak: Embriyo Takibi
4. Basamak: Embriyo Transferi

2. 7. 1. Oosit Toplama İşlemi (OPU)

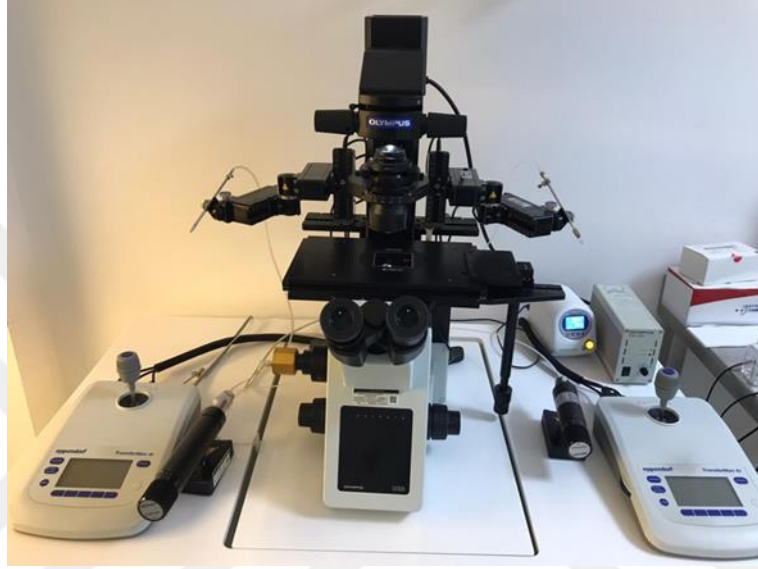
Oosit toplama steril şartlar altında genellikle genel anestezi altında yapılan YÜT'ün en ağırlı bölümlerinden biridir. Çok sayıda oosit elde edebilmek için normal şartlar altında vücutta üretilen hormon seviyelerinden çok daha yüksek düzeyde hormonun vücuda enjekte edilir. Gelişen oositler sıklıkla ultrasonografi yöntemi ve kan tahlilleri ile bazı hormonlar kontrol altında tutulur. Yumurta hücreleri istenen boyutlara ulaştığında ovulasyonu için tek doz (hCG, GnRHa) verilerek olgunluğa oluşan oositlerin çatlaması sağlanır. Yumurtlama iğnesi uygulandıktan sonra üzerinden 35-36 saat geçtiğinde ameliyathanede transvajinal ultrasonografi eşliğinde anestezi altında, bir iğne yardımıyla oositler toplanır. Bu süreçte eşinden alınan sperm örneği androloji laboratuvarında özel teknikler uygulanarak fertilizasyon için hazırlanır. Toplama sırasında bütün oositlerde bulunan sıvılar özel işlemlerle dışarıya alınır. Alanında uzmanlaşmış kişi mikroskop altındaki bu folikül sıvılarını mikroskop altında incelenerek oosit hücrelerini görmeye çalışırlar. Toplanan oositleri inkübatörde ayıklama işlemine kadar 2 saat bırakın. Bundan sonra yumurtaların ayıklanması (denüstasyon) işlemine geçilir. (Yixuan Wu ve ark., 2015)



Resim 6: Biyogüvenlik ve PCR çalışma kabini

2. 7. 2. ICSI-Fertilizasyon

ICSI işleminde, oositin içine özel işlemlerle hazırlanmış olan spermlerden morfolojisi en iyi olan bir sperm hücresi özel bir iğne yardımıyla oosit içerisine verilir. Böylece fertilizasyon sağlanmış olur.



Resim 7: ICSI micromanipulator



Resim 8: Mikroenjeksiyon yöntemi

2.7. 3. Embriyo Takibi

Fertilizasyon sonucunda oluşan embriyonun gelişimi belirli aralıklarla izlenmelidir. Embriyoların gelişim süreçleri, blastomerin bir ya da daha fazla çekirdeğe sahip olup olmadığı, simetrik olarak bölünme yetenekleri, simetri durumları ve fragmentasyon durumlarını gibi özellikler takip edilerek not alınmalıdır.

2.6.4.Embriyo Transferi

Embriyo gelişimlerinin takip edilmesi sonucunda rahme tutunma oranı en yüksek olan, en sağlıklı embriyolar seçilmelidir. Seçilen bu embriyolar, kullanılan özel kateterler yardımıyla ultrason eşliğinde anne rahmine vajinal yoldan iletilir. Transfer edilmeyen ancak gelişimini tamamlamış olan embriyolardan yüksek kaliteliye sahip olan embriyolar birtakım işlemlerden geçirilip isim etiketlerine dikkat edilerek sıvı azotta dondurulur. Hamilelik gerçekleşmediği durumlarda hastanın isteği üzerine tekrar transfer edilebilir. Fertilizasyon sonrasında, zigotta oluşan hücre bölünmeleri embriyoyu oluşurmaya başlar. Toplanan oositlerde fertilizasyon gerçekleştikten sonra embriyolar 3. günde 6-8 hücreli bir yapı oluştururlar. 5. günde embriyolar blastokist denilen hücre sayılarının arttığı evreye gelirler. Transfer işlemi genellikle oosit toplandıktan sonra 3.ya da 5. günde yapılır. (Yixuan Wu ve ark., 2015; CV Steer ve ark., 1992; Bradley J. Ve ark., 2007)



Resim 9: Döllenmiş embriyo

3.GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışma için SEAH Koruyucuk Tüp Bebek merkezinde 01.01.2019 ile 31.12. 2019 tarihleri arasında hastanenin yardımcı üreme merkezine çocuk sahibi olamama nedeniyle gelen çiftlerimizden erkek faktörü endikasyonu olan hastaların tüm dosyaları incelendi. Bu yaptığımız çalışma Sakarya Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 17.06.2021 tarihi ve 332 sayılı karar no ile çalışma etik kurul onayı alındı.

Çalışmamızda kullandığımız bilgiler SEAH'e tüp bebek tedavisi için başvuran erkek faktörü endikasyonu olan hastaları verileri arasından seçildi. Geçmiş dosyalar taranarak erkek hastaların spermiogram sonucunda sperm değerleri 15 milyon/ml ve üzeri, 15 milyon/ml altında olanları ve azospermik olanları hastaların dosyası incelenmiştir. Bu çalışmaya 90 hasta dahil edildi. Hastaların polikliniğe başvuru esnasında doldurmuş oldukları bilgilere ulaşıldı. Mevcut dosyalardan belirlediğimiz hasta grubunun fertilizasyon, embriyo gelişimi gibi önemli parametreleri ile beraber gebelik sonuçları bilgilerini SPSS yardımı ile girip gruplar arasında farklılıklar ve benzerliklere bakmaktır. Ayrıca bu çalışmada SAÜ bünyesinde bulunan ÜYTE merkezinde erkek faktörü endikasyonlarına karşı başarısında belirlemeye çalışacağız.

3.1. ÇALIŞMA SIRASINDA DENEYDE KULLANILAN EKİPMANLAR

3.1.1. Santrüfuj Cihazı

30 cm rotor çapına sahip ve 4000 rpm' ye kadar devir hızına yükselebilen, 99 dakikalık bir zaman ayarlayıcıyla çalışan ve 28 tüp kapasiteye sahip bir santrüfuj kullanıldı (Nüve nv 800).

3.1.2. Otomatik pipetör

200,1000 µl kapasiteye sahip otomatik pipetörler kullanıldı (Eppendorf).

3.1.3. Mikroskop

Preparat incelenmesi sırasında koordinat cetveli ve immersiyon objektifine sahip olan binoküler ışık mikroskobu ile inceleme yapıldı. (ISOLAB).

3.1.4. Flow kabin (Steril Kabin)

Steril bir ortamda hücre kültürü tüplerine, test solüsyonlarının hazırlanması, kültür tüplerine dikkatlice eklenmesi ve hücre ekiminin yapılması için kullanılır. %99,9 partikül tutma özelliğine sahip, UV ve floresan ışığı olan flow kabin (Holten IVF Tech) kullanıldı.

3.1.5. İnkübatör

Hücrelerin 37⁰ C sıcaklıkta inkübe edilmesi için kullanıldı (Sanyo MCA -5AC).

3.1.6. Konik Tüp

15 ml lik mavi renkli vidalı kapaklı (Falcon) tüpler kullanıldı.

3.1.7. Mikro akışkan çip

Sperm hücrelerinin hazırlanması sırasında kullanıldı (KOEK FERTİLE PLUS).

3.2. HASTA SEÇİMİ

Çalışmaya dahil edilme kriterleri kadın ve erkek için aşağıda belirlenmiştir.

Kadın için;

- 20-39 yaş aralığında olması
- En az 1 yıl istemesine rağmen gebe kalamamış olmak.
- Hastanın erkek faktörlü infertilite grubunda olması

Erkek için;

• 20-45 yaş aralığında olup spermalarında hareket ve/veya sayıca azalma tespit edilmiş olması

- Sperm sayısı; >1 milyondan
- Sperm hareketliliğinin %32'den az olması

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri kadın ve erkek için aşağıda belirlenmiştir.

Kadın için;

- 20-39 yaş aralığının dışında olan kadınlar

- 3'ten fazla sayıda IVF başarısızlığı olanlar
- Endometriozisi ya da endometrioması olan hastalar

Erkek için;

- 20-45 yaş aralığının dışında kalan erkekler
- Sperm sayısı 1 milyon altında olan erkek hastalar
- Sperm hareketliliği %32 den fazla olan erkek hastalar
- OPU gününde sperm veremeyip, cerrahi yöntemle sperm alınan hastalar

Çocuk sahibi olmak isteyen çiftler hastanenin infertilite kliniğine başvurdıklarında, tedaviye başlanmadan önce ilk olarak erkek bireye semen analizinin yapılması işlemler için çok önemli bir adımdır. Tedavi sırasında erkek faktörünün tanı ve teşhisi hakkında bize bir ön bilgi verir ve işimizi kolaylaştırabilir. Erkek hasta, semen analizi öncesinde işlem için bilgilendirilebilir. Hasta en az 2, en çok 7 günlük cinsel perhiz süresi hakkında önceden bilgilendirildi. Hastaya semen analiz kriterlerine uygun örnek verebilmesi için ejakülasyon sırasında dikkat etmesi gereken kurallar detaylı bir şekilde anlatıldı. Hasta örneği mastürbasyon yoluyla dikkat etmesi gereken kurallar dahilinde, toksik içermeyen steril bir kaba aktardı. İlk semen örneği spermatozoa hücreleri bakımından zengin bir içeriğe sahiptir. Bu nedenle ejakülasyon sonrasında tüm semen örneğinin steril numune kabında olup olmadığı hastaya sorularak teyit edilir. Numune kabı en az 20- 30 dakika, 37 dereceye ayarlanmış inkübatörde veya laboratuvar tezgahında bekletildi.

Ejakülasyon sonrası 30 ila 60 dakika arasındaki zaman diliminde; semenin likefaksiyonu ve makroskobik değerlendirme yapıldı. Makroskobik ve mikroskobik değerlendirme sırasında gerekli notlar alındı. Sperm konsantrasyonu, sayısı, motilitesi ve sperm dışında olan hücrelerin değerlendirmeleri yapıldı. Sperm hücrelerinin morfolojik değerlendirmesinin yapılması için yayma preparatı hazırlandı.

Dört saat geçtikten sonra yayma işlemi tamamlandıktan sonra değerlendirmeye geçildi. Preparatın fiksasyonu ve boyanma işlemi yapıp kurutulduktan sonra sperm morfoloji dikkatlice incelendi ve değerlendirildi.

3.3. MAKROSKOBİK DEĞERLENDİRME

Likefaksiyon: Erkek hastadan semen örneğini alındıktan sonra değerlendirebilmek için önce koagüle halinden kurtulmak için 30-60 dakika arasında homojen hale gelmesi için beklendi. Aksi bir durum gerçekleşirse not alınmalı.

Semen hacmi: Semen hacmi derecelendirilmiş bir pipet yardımıyla dikkatli bir şekilde ölçüldü. Semen hacmi total sperm sayısının hesaplanmasında kullanıldığından bizim için önemlidir.

Semen viskozitesi: Likefaksiyon sonrası semen balon pipet yardımıyla aspire edilerek viskozitesi değerlendirildi.

Ejakülatın görünümü: Likefiye olmuş semenin homojenliğine ve gri opak renkte olup olmadığına bakılıp, değerlendirildi.

3.3.1. Makler Sayım Kamarasında Semen Mikroskopik Değerlendirilmesi

DSÖ (World Health Organization, 2010) kılavuzundaki semen parametreleri referans alınarak semen analizleri yapılmıştır.

3.3.2. Konsantrasyon (Dansite) Ölçümü

Likefaksiyon sonrası semenler homojenize edildi, ardından spermier mikropipet yardımıyla veya 1,5 mm çapındaki balon pipet ile semen aspire edildi. Daha sonra makler sayım makarasına yaklaşık 10 µl kadar damlatıldı. Makler sayım çemberi objektifin tablasına yerleştirilir ve faz-kontrast mikroskopun 20X'lık objektifinde kareli alan bulunur ve dikey sütundan 10 ve yatay satırdan 10 kare olmak üzere sperm hücreleri ve hareket şekilleri sayımı yapılarak kaydedildi. Hesaplanan sperm hücre sayısının yarısı, 10^6 /ml ile çarpılarak esas konsantrasyonu bulunur.

3.3.3. Total Sperm Sayısının Hesaplanması

Testislerdeki sperm üretiminin tahmini ölçümü total sperm sayısı olarak bilinir. Toplam sperm sayısı, ejakulat hacminin konsantrasyonla çarpılmasıyla hesaplanır.

3.3.4. Motilitenin Değerlendirilmesi

Manuel teknikler ile semendeki sperm hücre sayısı ve spermin motilitesi belirlendi. Semen likefaksiyonu sonrası, makler sayım kamarasına yaklaşık olarak 10 µl kadar semen konulduktan sonra ışık mikroskobuna konularak x20 objektifinde 30 ile 60 dakika kadar incelendi. Makler sayım lamı üzerine semen damlatıldıktan sonra 10 yatay ve 10 dikey karedeki motil ve immotil spermatozoalar sayılarak yüzdesi oranı bulundu.

3.4. SPERM HAZIRLAMA YÖNTEMİ SEÇİMİ

İnseminasyon için tüm semen örnekleri “Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Yardımcı Üreme Merkezi Androloji Laboratuvarı'nda” hazırlandı. Hastanın eşinden 3-5 günlük cinsel perhiz sonrası, işlem günü sperm örneği istenir. Hastanın isim ve soyisinin yazılı olduğu steril kaplara semen toplama kriterlerine uygun şekilde verilen örnek

laboratuvara alındı. Sperm yıkama yöntemi olarak tüm hastaların çalışma kapsamında alınan sperm örneklerinin özelliklerine göre belirlendi.

3.4.1. Swim-Up Yöntemi

Spermiler seminal sıvıdan dışarı, kültür medyumunun içine hareket etme yetilerine göre geçebilirler. Swim-up yönteminde sperm hücreleri kendi hareketliliği ile semenden ayrılır. Bu nedenle yöntem yüzdürme (“swim-up”) tekniği olarak bilinmektedir. Ejakulattaki hareketli sperm hücresi sayısının tüm sayıya oranı yüksek olduğunda ve sperm dışı hücre sayısının düşük olduğu durumlarda bu yöntem tercih edilir. Bu tekniğinin uygulanabilmesi için bireyde yeterli sayıda motil sperm hücresi olması gerekir.

Swim-up yönteminde spermilerin geniş bir alana yayılması hareket edebilecek sperm sayısını da artırır. Bu nedenle yuvarlak tabanlı tüpler tercih edilmelidir. Çünkü bu tüpler konik tabanlı tüplerin aksine tabanda daha geniş bir yüzey sağlarlar.

İşlemden bir önceki gün gerekli olan medyumlar hazırlandı. Hasta dosyasından gerekli olan sperm sayı ve motilitesi öğrenildi.

Dört adet 15 ml falcon tüpünün (Axygen, USA) üzerine hastanın ve eşinin adı ve soyadı yazıldı. Diğer bir tüpe de hasta adı ve G-IVF (Virtolife, İsveç) yazıldı. Hastanın adının yazılı olduğu dört ayrı tüpe 1 ml G-IVF solüsyondan eklendi ve tüplerin hepsi spora yerleştirildi. Hastanın adının ve G-IVF yazılı tüpe 2ml G-IVF stok eklendi. Hazırlanan bu medyumlar diikatli bir şekilde inkibatöre yerleştirildi. Hastadan uygun koşullardan alınan semen örneği 30 dakika kadar etüvde bekletilerek likefiye olması sağlandı. Likefiye işlemi sonrasında semenin volümü sayılır. İçerisine 1ml G-IVF konulmuş tüplere 5ml’ lik enjektör ile likefiye olmuş semenden 1 ml eklenir. Tüplerin kapakları iyice kapatıldıktan sonra vortexte karıştırılır. Santrifüj cihazına yerleştirilen

tüpler 10 dakika 500g'de santrifüj (Nüve, TURKEY) yapılır. Pellete zarar vermeden dikkatlice supernatant kısmı alınarak atılır.

Tüm tüplere 0,5 ml G-IVF stok eklendi. Eğik açıyla tutulan tüpe, pellet kısmına zarar vermeyecek şekilde medyum eklendi. Medyumun miktarı sperm sayı ve motilitesi baz alınarak ayarlandı. Tüpler 45 derece eğimli olacak biçimde spora yerleştirildi. Daha sonra tüpler 37 °C'de en az 60 dakika, %6 CO₂ 'te inkübe edildi.

60 dakika sonra yeni bir falcon tüpü daha hazırlandı Her tüpten alınıp eklenen medyum miktarına göre 0,1-0,4 ml arası medyum + sperm, iğne ucu pellete yaklaştırılmadan dikkatli bir şekilde çekildi ve isim yazılı yeni tüpe konuldu.

Hazırlanmış sperm örneği incelenerek, sayı ve motilitesi kaydedildi. Hazırlanmış sperm işlemlerde kullanılıncaya kadar 37 °C ve %6 CO₂ 'te inkübe edildi.

İşlemden bir önceki gün gerekli olan medyumlar hazırlandı. Hasta dosyasından gerekli olan sperm sayı ve motilitesi öğrenildi. Semen örnekleri 30 dakika kadar etüvde bekletilerek likefiye olması sağlandı. Sonrasında sperm hazırlama işlemine alındı. Semen örneğinden 5 µL. alınarak işlem öncesi volüm, motilite, konsantrasyon, lökosit gibi parametrelere bakılıp ve değerlendirildi. Yapılan mikroskopik incelemenin ardından swim-up yöntemi ile yıkandı. Swim-up tekniğine yani progresif motiliteye sahip spermelerin medyum içerisinde yüzdürülmesi yöntemine semen örneğini falcon konik tüpe konularak başlandı. Üzerine 1/1 oranında sperm yıkama medyum (Sperm Rinse Solusyonu, Vitro Life, İsveç) tüplerin dibindeki pelet bozulmadan yavaş yavaş ilave edildi. Pipetleme işlemi sonrası örnek 10 dakika boyunca 1000 rpm'de santrifüj edildi. Supernatantlar pipet yardımıyla alınarak atıldı. Tüp sonra 45 derecelik açı ile yerleştirilip, pelet üzerine 0,25 ml sperm yıkama medyum (Sperm Rinse Solusyonu, Vitro Life, İsveç) eklendi. Açı bozulmadan 37°C sıcaklıkta %6 CO₂ neme doymuş inkübatörde 30 dakika-1 saat inkübe edildi. Supernatan'dan bir miktar alınarak, sperm

sayı ve motilitesi tekrar mikroskopla incelenerek kaydedildi. Son olarak, tüpün açısı bozulmadan pastör pipet yardımı ile toplam 0,5 ml olacak şekilde tüp yüzeyinden süpernatantlar çekilerek ICSI için kullanılmak üzere falcon 5 ml tüpe aktarıldı.

3.4.2. Kontrollü Hiperstimülasyon ve ICSI Prosedürü

Kontrollü yumurtalık stimülasyonu için Antagonist protokol (Cetrotide; Serono) için kullanıldı. Gonadotropin dozu, hastaların over rezervi ve kullanılan gonadotropinlere karşı overleri verdiği yanıtı göre belirlendi. İnsan koryonik gonadotropin (Hcg) enjeksiyonu en az iki folikül ortalama çapı 17 mm'ye ulaştığında uygulandı. HCG enjeksiyonunu takiben 36 sonra transvajinal-USG ile genel anestezi altında oositler toplandı. (Ozcan P., et al 2021)

3.5. YUMURTA TOPLAMA İŞLEMİ (OPU-OOSİT PICK-UP)

Gerekli steril koşullardan sağlandıktan sonra hastaya kadın doğum uzmanının gözetiminde uygun ovulasyon indüksiyonu işlemi uygulandı. Foliküller yeteri büyüklüğe ulaştığında hCG enjeksiyonu ile çatlatma iğnesi için hastaya gün ve saat söylendi. hCG enjeksiyonu prosedüründen sonra hastaya mutlaka 34-36 saatler arasında folikül sıvısı aspire edilmelidir. Kadın doğum uzmanı opu iğnesi ve aspiratör cihazı yardımıyla folikül sıvısını, oosit için toksik olmayan tüplere aspire etti. 37°C' lik sıcak zemin üzerinde bulunan 60 mm çapındaki petri kaplarına, hastadan aspire edilen folikül sıvısı boşaltıldı. Koronakümüls kompleks (COC) makroskopik olarak incelendikten sonra petri kabına yayarak incelenen kompleks içindeki oosit hücreleri belirlendi. İşlem öncesinde hazırlanan 37°C' deki tampon içerikli mediumların (W/Hepes) içerisine yerleştirilerek dış ortamın olumsuz etkilerinden uzaklaştırılmaya çalışıldı. Yumurta toplama işleminin sonunda elde edilen oositler inkübe edilmiş bir kültür petrisine yerleştirildi.

3.6. OOSİT DENÜDASYONU VE MATÜRASYON TAYİNİ

Toplanan oositlerin kümülüs ve korona hücrelerinden temizlenmesi için COC' lar denüstasyon işlemine alındı. Aynı bir yerde hazırlanan denüstasyon kabı hazırlamak için tampon içerikli medium ve hyaluranidaz enzimi kullanıldı. Hazırlanan petri kabı etüve kaldırıldı. COC' lar hyaluranidaz solüsyonundan çıkarıldı ve 30-60 sn kadar bekletildi. Stripper'a uygun çaplı (175 µm-150 µl) bir denüstasyon pipeti takıldı ve çek bırak işlemi uygulanarak kümülüsler enzimatik tepkimer ile yok edildi. Oositler W/Hepes' li diğer bir bölüme aktararak çapı daha küçük olan (145 µm) denüstasyon pipeti ile çek bırak yapılarak temizlendi. Son işlem olarak w/Hepes' li kullanılmamış bölümün içerisine taşınarak al-ver yöntemiyle tamamen kümülüs hücrelerinden arındırıldı. Oosit hücreleri invert mikroskoba alındı ve polar cisimcikler gözlemlenerek matürasyon tayini yapıldı. Denüstasyon işleminden sonrası oositler 37°C' de ünkübe edildi ve kültür petrilere aktararak beklemeye bırakıldı.

3.7. MİKROENJEKSİYON-ICSI (INTRA CYTOPLASMİC SPERM INJECTION) İŞLEMİ

3.7.1. ICSI petrisi hazırlama

Kardeş oositlere farklı 2 yöntem ile ayıklanmış sperm hücreleri ile ICSI işlemi uygulanacağı için bu işlem için iki farklı petri kabı hazırlandı. ICSI petrilерinin içine oosit sayısına uygun olacak şekilde tampon içeren mediumlarla 5 µl'ik droplar yapıldı. w/Hepes ile sperm drobu hazırlandı. Oosit ve sperm droblarının ikisi arasına yaklaşık olarak 5 µl %7'lik PVP eklendi. PVP, sperm drobundan seçilip alınan hareket yeteneği olan spermilerin hareketlerini kısıtlayarak spermilerin kuyruklarını kırma işlemini kolaylıkla yapılmasına yardımcı olmaktadır. ICSI petrilерinin üzeri daha önceden ısıtılmış olan yağ ile dolduruldu ve 37°C'deki etüve dikkatlice sarsmadan kaldırıldı.

3.7.2. Mikroenjeksiyon işlemi

İşleme başlamadan önce manipülatör ICSI işlemi için hazırlandı. Isıtıcı tabla ayarı 37°C'ye getirildi. Holding ve ICSI pipetleri takıldı. Swim-up yöntemi ile önceden hazırlanan sperm, sperm drobuna yerleştirildi. Daha sonra kardeş oositlerin bazıları oosit droplarına yerleştirildi. Sperm hücreleri ICSI pipeti ile çekilerek PVP drobuna yerleştirildi. Bu işlemden sonra sperm, sperm kuyrukları kırılarak hareket yetenekleri azaltıldı. Uygun olduğu düşünülen sperm hücreleri ICSI pipeti içerisine aspire edildi. Oositler holding pipetleri ile tutularak işleme başlandı. Polar cisimcik 6-12 saat yönüne gelecek şekilde düzeltilti. ICSI pipeti yardımıyla sperm hücresi oosit içerisine bırakıldı ve oosit aktivasyonu sağlanması için 1- 2 defa aspire edildi. Bu işlem ICSI petrisinde bulunan bütün oosit hücreleri için tekrar edildi. Mikroenjeksiyon işlemi gerçekleştirilen bütün oositler dikkatlice inkübe kültür petrilерinin içine yerleştirildi, petri üzerine karışıklık olmaması için gerekli hasta bilgileri yazıldı. Ayrıca petri üzerine işlem sırasında tercih edilen sperm ayıklama yöntemi de yazılmalı tüm işlemler bittikten sonra petri kabı dikkatlice inkübatöre koyuldu.

Daha önceden hazırlanmış diğer ICSI petri kabının sperm işlem drobuna, mikroakışkan çip yöntemi ile ayıklanmış sperm bırakıldı. Kardeş oosit hücrelerinin işlem esasında kullanılmayanları oosit hücreleri droplarına koyuldu. ICSI pipeti yardımıyla morfolojisi düzgün olan sperm alınıp, PVP drobuna aktarıldı. Sperm, sperm hareketlerini kısıtlamak için kuyrukları kırıldı. ICSI pipeti ile morfolojisi düzgün olan sperm, sperm seçilerek pipet içerisine çekildi, holding pipet yardımıyla oositler tutularak ve polar cisimcik 6-12 saat yönüne gelecek şekilde çevrildi. ICSI pipetiyle yardımıyla sperm oosit içerisine bırakıldı ve 2-3 kez aspirasyon işlemi uygulanarak oosit aktivasyonu sağlanmaya çalışıldı. Elimizdeki tüm oositlere bu işlemler yapıldıktan sonra hastanın bilgileri ve yapılan mikroçip yöntemi de petri kabı üzerine yazılarak işlem sonlandırıldı ve dikkatlice inkübatöre kaldırıldı.

3.8. EMBRİYO KÜLTÜRÜ

Petri kaplarına embriyo için toksik olmayan, Life Global kültür medyumunu ile Life Global paraffin yağ içeren kültür ortamı oluşturuldu. 24 saat 37°C’ de, %6 CO₂, 02 ve %89 N içeren inkübatörlerde bırakıldı. İnkübe kültür ortamına mikroenjeksiyonu yapılmış oositler yerleştirildi. Gelişimin 1. ve 3.günlerinde embriyolar taze kaplara alındı. Embriyoların morfolojilerine göre hastalara uygun 3, 4, ve 5. günlerde transferleri yapıldı.

Çalışmamızın verilerini karşılaştırmak için SSPS Analiz Programı kullanıldı. Karşılaştırma yapılırken kadın ve erkek hastanın yaşı, endikasyon durumları, sigara içip içmedikleri, hangi prokotonun kullanıldığı, siklusün tipi, kaçınıcı tüp bebek denemesi olduğu, sperm hazırlama yöntemleri, işlem sırasında kadından kaç oosit toplandığı, toplanan oositlerin kalitesi, birinci / ikinci /üçüncü gün yumurtanın durumu, 5. Gün sonunda kaç embriyosunun olduğu, spermin hacmi – sayısı – molilitesi – progresif hareketi, embriyo transferinin hangi gün yapıldığı, transfer edilen yumurtaların durumları, KRYO yapılan embriyo sayısı ve gebelik sonucu gibi parametrelere bakıldı. Tüm veriler sistematik bir şekilde programa kayıt edildi.

Yapılan çalışmada SEAH Tüp Bebek Merkezi Hasta kayıtlarından elde edilen veriler doğrultusunda erkek endikasyonu olan hastaların IVF tedavi başarısı üzerine etkili olup olmadığı, bu hasta gruplarında sperm hazırlama yöntemi, hasta yaşı, sigara kullanıp-kullanmama gibi etkenlerin fertilizasyon, embriyo gelişimi gibi önemli parametreleri ile beraber gebelik sonuçlarını etkileyip etkilemediği değerlendirilmiştir.

4.BULGULAR

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Yaptığımız çalışmadaki istatistiksel analizler SPSS 24.0 paket programı (SPSS Inc. ve LeadTech. Inc. Chicago. ABD) kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılımı için Kolmogorow-Simirnow testi kullanıldı. Çalışmamızda erkek infertilitesinde Oligozoospermi, Normozoospermi ve TESE erkek infertilitesi endikasyonu almış çiftlerin IVF tedavisi sonucu verileri karşılaştırdık. Üç sperm hazırlama tekniğinin kıyaslanması durumu söz konusu olduğu için normal dağılım göstermeyen parametreler için Kruskal Wallis Testi kullandık. İstatistiksel olarak anlamlı çıkan parametrelerde ikili karşılaştırmaları Mann Wihtney Testi kullandık. Tüm sonuçlar ortalama±SD olarak sunuldu. $P<0,05$ olan sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi.

SONUÇ

Çalışmamıza 90 erkek faktörü endikasyonu olan hastaları dahil ettik. Hastalarımızın 30'u Normozoospermi, 30'u Oligozoospermi ve 30'u da TESE endikasyonuna sahipti. Erkek infertilitesindeki üç endikasyona sahip olan bireyleri IVF tedavi sonuçlarını Kruskal Wallis Testi kullanarak karşılaştırdık. $P<0,05$ anlamlı olan sonuçlar bizim için istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

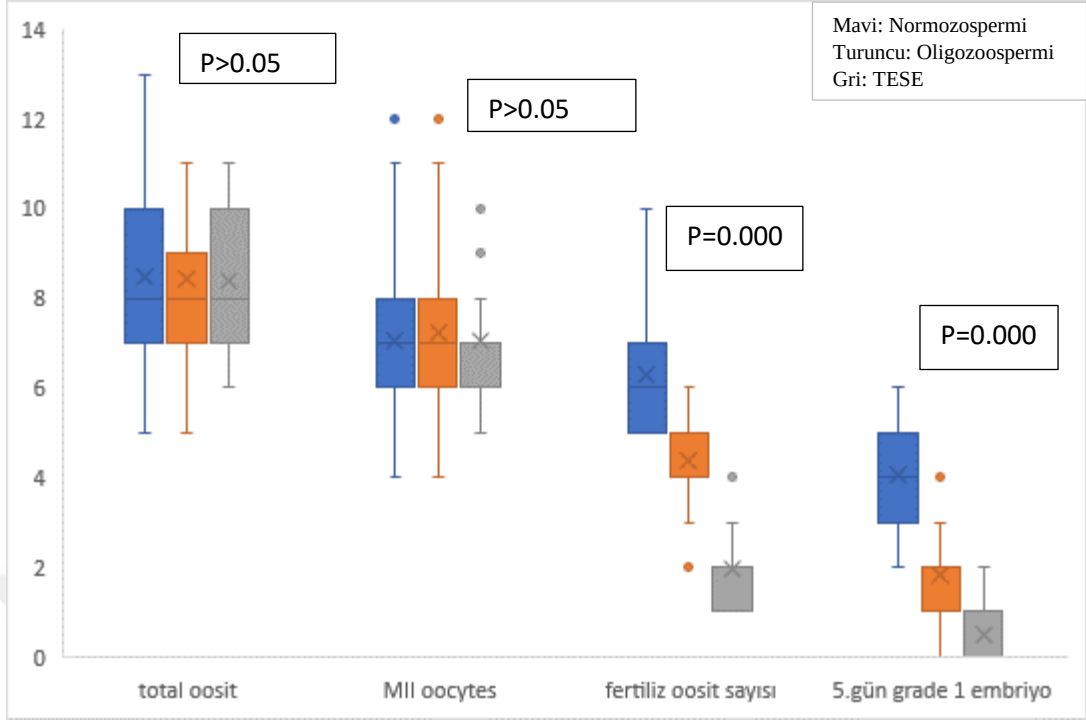
Çalışmamızdaki kadın ve erkelerin yaş ortalaması; kadın ve erkeklerin BMI leri, tedavide kullanılan total gonadotropin miktarları, arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. ($P>0.05$) Tablo1. Yaş, BMI ve tedavide kullanılan gonadotropin

miktarları arasında farkların görülmemesi çalışmadaki laboratuvar ve klinik sonuçları daha doğru bir şekilde karşılaştırmamıza yardımcı oldu. Görülebilecek olası farklar çalışma sonuçlarımızın doğruluğu açısından sıkıntı oluşturabilecekti. Özellikler hasta verileri arasında homojenlik olmasına dikkat edildi.

Parametreler	Normozoospermi	Oligozoospermi	TESE	P value
Kadın Yaşı	31.03±1	32.26±0.25	33.42±1.24	P=0.212
Erkek Yaşı	33.4±2.6	34.1±2.1	35.01±0.24	P=0.332
Kadın BMI	25.3±0.3	24.28±4.4	26.01±0.24	P=0.243
Erkek BMI	29.4±3.4	30.8±1.8	31.4±1.55	P=0.412
Total Gonadotropin	1800±55	1900±20	1850±75	P=0.243

Tablo 4: Çalışmamızdaki çiftlerimize ait yaş, BMI ve tedavide kullanılan total gonadotropin parametreleri karşılaştırılması

Çalışmamızda üç farklı erkek infertilitesi görülen hastalarımızdan elde ettiğimiz spermiler ile yaptığımız ICSI işlemlerinde, toplam oosit sayısı, MII evresindeki oosit sayısı, fertilize olan oosit sayısı, 5.gün kaliteli embriyo sayıları ile ilgili karşılaştırmalar Resim 10'de sunulmuştur. İki grup arasında toplanan toplam oosit, MII oosit sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi(P>0.05). Fertilize olan oosit sayıları, 5.gün iyi kalite embriyo sayıları Normozoospermi grubu yönünde anlamlı farklar görüldü (Resim 10).



Resim 10. Gruplar arası total oosit, MII evresindeki oosit, Fertilize olan Oosit ve 5.gün grade 1 embriyo verilerinin karşılaştırılması.

İki grup arasında toplanan oosit, MII oosit sayıları arasında fark görülmedi. Fertilize oosit, 5.gün iyi kalite embriyo sayıları arasında anlamlı farklar görüldü. Üç grup arasındaki karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi kullanıldı. Anlamlı farklar çıkan gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda Mann whitney you testi kullanıldı. $P<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

Bu grupta 29 vakadan 8 tanesinde implantasyon pozitiflik görüldü. Fakat bunlardan sadece bir tanesinde gebelik oluşmasına rağmen ilerleyen haftalarda düşük ile sonuçlandı. Mikroçip yönteminde, 28 vakadan 9 tanesinde implantasyon pozitiflik görüldü. Bu vakalardan 6 tanesinde mikročip yöntemleri ile hazırlanan vakalarda sırası 6 tanesinde gebelik pozitif oldu ve 3 tanesinde gebelik görüldü. Gruplar arasında implantasyon ve gebelik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar görülmedi ($P>0.05$).

Çalışmamızda erkek faktörüne bağlı infertil olan çiftlerde gebelik oranları, Oligozoospermi grubunda %32,56, TESE grubunda %13,04 ve Normozoospermi grubunda ise %35,63 oranında gebelik gerçekleştiği saptanmıştır. Üç grup arasında yapılan karşılaştırmalarda gebelik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar görüldü($P=0.002$). Gruplar arasında gerçekleştirilen ikili karşılaştırmalarda Normozoospermi ve Oligozoospermi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar görülmedi($P>0.05$). Ancak Normozoospermi ve Oligozoospermi gruplarının TESE grubu ile yapılan ikili karşılaştırmalarda her iki grubun TESE grubuna göre daha yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek gebelik oranlarına sahip oldukları görüldü.



5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Biz çalışmamızda, sperm sayısı 15 milyon/ml'den az olan oligozoospermik, sperm sayı, hareket ile beraber morfolojiside normal kriterler içerisinde olan normzoospermik ve ejakülatında sperm elde edilemeyen fakat TESE ile sperm elde edilmiş hastalarımızın IVF tedavileri sonuçlarını karşılaştırdık. Her sperm elde etme durumuna göre 30'ar çiftimizden 90 hastadan oluşan bir çalışma oluşturduk. Çalışmamızda grupları karşılaştırmak için total oosit sayıları, MII oosit sayıları, fertilize olmuş yumurta sayısı, beşinci Grade 1 embriyo sayıları ve gebelik oranlarını karşılaştırdık.

Sperm kalitesinde bozukluk fertilizasyon sonrası embriyo kalitesini de kötü yönde etkilediği düşünülmektedir. Buna karşın ICSI işleminde invert mikroskop ile spermelerin daha dikkatli seçilmesinin kötü kaliteli spermelerin ekarte edilmesine sebep olduğu belirtilmiştir. Bu durumun spermelerin genel kalitesinin kötü olmasına rağmen ICSI sonrası benzer veriler elde edilmesine sebep olduğu belirtilmiştir. Fertilize olmuş embriyolarının gelişiminde 2-3 günlük evrelerine kadar maternal karakter özelliği baskındır. Bu aşamadan sonra embriyo gelişiminde sperm karakterleri de etki göstermeye başlar. Dolayısı ile IVF tedavilerinde oosit kalitesi kadar sperm kalitesi de başarıda büyük öneme sahiptir. Sperme bağlı kalite kriterleri fertilizasyondan sonra erken bölünme olana kadar çok etkili olmasa da implantasyon öncesi gelişim aşamasını ciddi bir şekilde etkilemektedir. (Loutradi K. E., Tarlatzis B. C., Goulis D. G., Zepiridis L., Pagou T., Chatzioannou E. 2006; Dacheux JL, Dacheux F.,2013)

Çalışmamıza benzer gruplara sahip bir araştırmada 63 hastada ejakülat ve testiküler spermier kullanılarak yapılan ICSI sonucu elde edilen embriyoların gelişimleri

incelenmiştir. Testiküler sperm grubu embriyoların daha hızlı geliştiği gözlemlenmiştir. (Chatziparasidou A, Oraiopoulou C, Moisidou M, Ioakeimidou C, Pappas C, NijsM, Christoforidis N. 2014) Başka bir çalışmada ise testiküler sperm ve ejakülat spermleri ile yapılan ICSI işlemi sonrasında sonucu elde edilen embriyoların gelişimleri incelenmiştir. Bu testiküler, normozoospermik ve oligozoospermik gruplarında spermin matürasyon farklılıklarından dolayı embriyo kalitelerinde farklılıklar olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada testiküler sperm ile elde edilen embriyoların kalitelerinde ciddi sıkıntılar olduğunu görülmüştür. Ejakülat spermlerin özellikle normozoospermik grupta embriyoların oldukça iyi kalitede oldukları görülmüştür. (Minasi M G, Casciani V, Scarselli F, Terribile M, Franco G, Cotarello R P, Varrichio M T, Greco E. 2014) Bahsedilen çalışmalardaki embriyo kaliteleri bizim çalışmamızdaki sonuçlara benzerlik göstermekteydi. Bizim çalışmamızda fertilizasyon oranları ve beşinci gün Grade1 embriyo sayıları normozoospermik grupta diğer gruplara oranla daha fazla görüldü. Oligozoospermik grupta sperm sayısı düşük olmasına rağmen TESE grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü. TESE işlemi ile elde ettiğimiz spermleri ICSI öncesi maturasyon için medyumlarda bekletilse de bu süre veya süreç yeterli olmayabilir. Bu nedenle bizim çalışmamızda da TESE spermleri ile yaptığımız ICSI işlemleri sonrasında fertilizasyon ve 5. Gün Grade 1 embriyo sayılarında diğer çalışma gruplarına göre daha az başarı görüldü.

Bizim çalışmamızla benzer sonuçları olmayan literatürde çalışmalar bildirilmiştir. Azoospermik hastalardan elde edilen testiküler sperm ile yapılan işlemlerin, en az ejakülat ile elde edilen spermler kadar etkili sonuçları oldukları bildirilmiştir. (Loutradi K. E., Tarlatzis B. C., Goulis D. G., Zepiridis L., Pagou T., Chatzioannou E. 2006) Yine başka bir çalışmada testiküler sperm ile yapılan işlerde gebelik sonuçlarının yüksek olmasa da fertilizasyon ve embriyo kalitelerinin ejakülat spermleri ile yapılan işlemler ile aynı sonuçları verdiğini bildirmişlerdir. (Bukulmez O., Yucel A., Yarali H., Bildirici İ., Gurgan T. 2001) Yine farklı çalışmalarda testiküler spermler ile yapılan ICSI işlemlerinde fertilizasyon ve gebelik oranlarının normozoospermik ve oligozoospermik gruplarından bir farkı olmadığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada normozoospermik ve oligozoospermik spermlerde testiküler sperme göre DNA hasarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalarda öneri olarak,

yüksek DNA hasarı olan ejakülat spermilerin ICSI işlemlerinde başarısız olacağı, bu yüzden bu hastalarda ICSI işleminde testeküler spermilerin kullanılmasının daha uygun olacağı bildirilmiştir. (Son WY, Chung JT, Henderson S, Reinblatt S, Buckett W, Chan PT, Holzer H. 2013; Weissman A, Horowitz E, Ravhon A, Nahum A, Golan A, Levran D.,2008;)

Literatürde gebelik ve devamını sağlıklı bir şekilde devam edebilmesi için sperm kaynağının testiküler veya ejakülat olmasının herhangi bir farkının olmadığı bildirilmiştir (Ludwig M, Katalinic A.,2003; Silber SJ 2010) Yine bir çalışmada oligozoospermi ile normozoospermi hastaların implantasyon, gebelik veya düşük sonuçları karşılaştırılmış fakat gruplar arasında bir fark görülmemiştir (Tesarik J., Mendoza C., Greco E., 2002) Yapılan başka bir çalışmada sperm elde edildiği kaynak ve elde edilen spermilerin kalite kriterlerinin fertilizasyon ve embriyo kalitesi üzerine etkileri araştırılmış. Sperm kalitesinin ilginç bir şekilde ICSI sonuçlarına herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. (Tsai CC, Huang FJ, Wang LJ, Lin YJ, Kung FT, Hsieh CH, Lan KC. 2011). Testiküler sperm ve oligozoospermi hasta gruplarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, ICSI sonrası testiküler sperm grubunda fertilize oosit sayısının daha düşük olduğu fakat testiküler spermiler ile fertilizasyon sonrasında gelişen embriyo kalitelerinde gruplar arasında bir fark olmadığı görülmüştür. Bu çalışmada sperm kaynağının ne embriyo kalitesi ne de gebelik oranları üzerinde bir etkisin bulunmadığı bildirilmiştir (Oron G, Fisch B, Sapir O, Wertheimer A, Garor R, Feldberg D, Pinkas H, Ben Haroush A 2014).

Çalışmamızda, üç çalışma grubun sperm kaynağının fertilizasyon oranları, beşinci gün kaliteli embriyo elde edilmesinin gebelik oranları da incelenmiştir. Daha önce belirttiğimiz gibi farklı sperm kaynaklarının fertilizasyon oranları, embriyo gelişimi üzerinde etkisi olduğunu istatistiksel olarak anlamlı farklar görüldüğünü bildirmiştik. Çalışmamızda gruplar arasında gebelik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur. En yüksek gebelik oranlarının normozoospermik grupta olduğunu ve en düşük gebelik oranlarının ise testeküler spermiler ile yapılan vakalarda olduğunu gözlemledik. Ejakülat spermiler ile yapılan vakalarda gebelik oranlarının

daha fazla olduğu fakat normozoospermik ve oligozoospermik gruplar arasında gebelik oranları arasında bir fark olmadığı görüldü.

Sonuç olarak çalışmamızdaki farklı sonuçların nedenlerini ilk olarak sperm matürasyonu ile alakalı olduğunu düşünmekteyiz. Sperm maturasyonunun son basamaklarında epididimis büyük önem taşımaktadır. Testiküler sperm ekstraksiyonu seminifer tübüllerden doku parçaları alınarak elde edildiği için sperm maturasyonu yarıda kalmıştır. Bu nedenle TESE ile sperm elde edilen çalışma grubumuzda fertilizasyon, kaliteli embriyo sayıları ve gebelik oranları daha düşük çıkmıştır. Ayrıca TESE spermlerini ICSI öncesi maturasyonu için inkübe ettiğimiz medyumlarında testiküler sperm maturasyonunu tamamlamada yetersiz olabileceğini düşünmekteyiz.

Gruplardaki farklar için düşündüğümüz ikinci sebep; birçok merkezde ICSI işlerinde kullanılan ejakülat spermleri istisnalar haricinde taze spermler ile gerçekleştirilmektedir. Fakat aynı durum TESE spermler için pek mümkün değildir. İşlemleri süresi düşünüldüğünde aynı gün yumurta toplama ve taze TESE spermleri ile ICSI yapmak mümkün olmamaktadır. TESE spermleri dondurulup saklanmaktadır. Dondurulan spermlerde KRYO hasarı görülmesi oldukça muhtemeldir. Hasar görmüş veya DNA hasarı görülen spermler ile yapılan ICSI işlemlerinde fertilizasyon ve embriyo kalitesinin kötü olmasında önemli bir neden olduğunu düşünmekteyiz.

Bir diğer sebep ise tüp bebek tedavilerinde başarı sadece spermlere bağlamak mümkün değildir. İndüksiyon yönetimi, zamanında ve yeterli büyüklükte folikül toplamak, OPU süresi, laboratuvar şartları ve embriyolog tecrübesinin de sonuçlarda etkili olduğunu düşünmekteyiz. Bu neden ile daha kapsamlı, deney grubu daha büyük çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünmekteyiz.

6.KAYNAKÇA

- Açıkgöz, Y. (2019). *İntrasitoplazmik sperm injeksiyonu tedavisine başlanan çiftlerde embriyo transferi öncesi siklus iptal nedenleri.*
- Afshani, M. (2017). *Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (Tese) Sonrası Seminifer Tübülüslerde Spermatogenik Hücre Varlığının Araştırılması.*
- Ali, K. (2016). *Oosit Donasyon Programında Baba Yaşının Üreme Başarısı Üzerine Etkisi.*
- Aydın, D. Ş. D. (2017). *Erkek İnfertilitesi Nedeniyle Yapılan İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu Sikluslarında Mikroakışkan Çip ile Seçilen Spermilerin Klinik Sonuçlara Etkisi Var mı? 4, 9–15.*
- Ayşe, A. (2013). *Azospermik olgulardan alınan tese dokularının ultrastrüktürel incelenmesi ve nos izoformlarını n etkisinin değerlendirilmesi.*
- Aytaç, İ. (202). *Yardımcı üreme tekniklerinin hukuk ve adli tıp açısından incelenmesi. istanbul.*
- Boyraz, D. G. (2013). *Açıklanamayan İnfertilite Nedeniyle İntrauterin İnseminasyon Uygulanan Hastalarda Ejakülattaki Preapoptotik Sperm Oranının İntrauterin İnseminasyon Başarısındaki Etkisinin Araştırılması.*
- Çağlar, D. B. (2005). *İnfertil olgularda gonadotropinli süperovulasyon siklusları ile klomifen sitratlı minimal stimülasyon sikluslarının sonuçları. 1–50.*
http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/kadin_hast/dr_bahar_caglar.pdf
- Can, N. K. (2018). *Erkek infertilitesi tanısı almış bireylerin spermelerinde otofaji belirteçlerinin araştırılması.*
- Canset, Y., Büşra, K., & Beyza, T. (2010). *Yardımcı Üreme Teknikleri Raporu.*

- Dinçel, S. (2019). *Tüp Bebek Laboratuvar Uygulamalarında Sperm Hazırlama Yöntemlerinin İvf Başarısı Üzerine Etkileri.*
- Doğan, P. D. E., & Ata, P. D. B. (2018). *Ulusal Üreme Sağlığı ve İnfertilite Kongre kitabı.*
- Eğriboyun, D. S. (2013). Non-Obstrüktif Azospermisi Olan Erkeklerde Mikroskopik Testiküler Sperm Ekstraksiyonu Öngörü Modeli. *Non-obstrüktif azospermisi olan erkeklerde mikroskopik testiküler sperm ekstraksiyonu öngörü modeli.*
- Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi.* (2013).
- Gencil Dr.Berna. (2019). *2016-2019 Yılları Arasında Kliniğimizde IUI Tedavisi Uygulanan Luteal Faz Desteği Alan ve Almayan Hastalarda Klinik Gebelik Sonuçlarının Karşılaştırılması.*
- Göksu, D. G. (2017). *Zekai Tahir Burak Hastanesi IVF Servisinde, IVF Tedavisi Alan Hastaların Genetik Anomali Açısından Değerlendirilmesi Ve Genetik İncelemenin IVF Tedavisindeki Maliyet Etkiliğinin Hesaplanması.* 1–27. <https://ci.nii.ac.jp/naid/40021243259/>
- Güçtaş, D. A. Ö. (2006). *Bilgisayar Destekli Semen Analiz Sistemi (CASA) ile Yapılan Sperm Morfolojisi İncelemelerinin Tekrarlanabilirliği, Değişken Analizleri ve Laboratuvar İçi Manuel Yöntemle Karşılaştırılması.*
- Güenalp, P. D. S. (2004). *Kadın Doğum Hekiminin Erkek Faktörünün Araştırılması Ve Değerlendirilmesindeki Yaklaşımı Ne Olmadır?*
- Güngör, E. (2019). *Erkek Faktörlü Hastalarda Embriyo Gelişimi ve IVF Sonuçlarının Preimplantasyon Genetik Tanı İle Değerlendirilmesi.*
- İbiş, D. M. A. (2020). *Non-Obstrüktif Azospermili Hastalarda Ejekülatta Ve Tese Materyalinde Bakılan PcnA Ve Lim-15 Gen Ekspresyon Düzeylerinin Tese'de Sperm Bulma Konusunda Prediktif Değeri.*
- Kadioğlu, P. D. A., Kendirci, D. D. M., Aktan, M. G., Yaman, P. D. Ö., & Çayan, P. D. S. (2010). *WHO Laboratuvar El Kitabı İnsan semeninin incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi Türk Üroloji Derneği WHO Laboratuvar El Kitabı*

İnsan semeninin incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi.

Kefelioğlu, P. D. H. (n.d.). *Hayvan embriyolojisi ders notları.*

Kilciler, D. D. M. (2009). *Erkek İnfertilitesi.*

Kılıçdağ, E. B., Bağış, T., Bülent, H., Ebru, T., Aslan, E., Erkanlı, S., Şimşek, E., & Zeyneloğlu, H. (2005). *İntrauterin İnseminasyon (IUI) Sikluslarında Gebelik Sonuçlarını Etkileyebilecek Prognostik Faktörler.* 0322, 223–228.

Kütükoğlu, K. (2019). *Erkek faktörlü infertil olgularda embriyo gelişiminin değerlendirilmesi.*

Leyla, B. (2007). *Yardımcı Üreme Teknikleri Uygulamasında Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı Olan Kadınlarda Luteal Faz Endometriyumunun Ototolog Kokültür Endometridyumuyla İnce Yapı Düzeyinde Karşılaştırılması.*

Özlem, A., & Ebru, Ş. (2020). *Yardımcı Üreme Teknikleri ve Hemşireliği Yaklaşımı.* 3(1), 55–75.

Öztürk, D. A. C. (2021). *Açıklanamayan İnfertilite Olgularında İlk İVF-ET Siklusundaki Gebelik Sonucunu Etkileyen Prognostik Faktörlerin ve Eşik Değerlerinin Araştırılması.*

Öztürk, D. E. K. (2015). *İ n v i t r o f e r t i l i z a s y o n (i v f) o l g u l a r ı n d a s e r u m v e f o l l i k ü l e r s i v i d a t o t a l o k s i d a n v e t o t a l a n t i o k s i d a n s e v i y e l e r i n i n d e ğ e r l e n d i r i l m e s i .*

Prof.Dr.Yaprak, Ü., & Doç.Dr.İnci, K. (2019). *Her yönüyle in vitro fertilizasyon* (pp. 1–204).

Sabri, P. E., & Halil, Ç. (2019). *Non-obstrüktif azospermik hastalarda mikrocerrahi testiküler sperm ekstraksiyonu ilk sonuçlarımız : H arran Ü niversitesi Ü roloji kliniği The first report from Harran University Department of Urology on microscopic testicular sperm extraction results in.* 134–138.

Satar, D. A., & Gençdal, S. (2013). *Sperm Değerlendirilmesi. Arşiv Tarama Dergisi,* 532-543.

Sigman, M., Zini, A. (2009). Semen analysis and sperm function assays: what do they mean?. In *Seminars in reproductive medicine* (Vol. 27, No. 02, pp. 115-123). © Thieme Medical Publishers.

Şahin, P. (2019). *Sağlık Bilimleri İçin Resimli Temel Anatomi*. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi.

Tanoğlu, E. güzel, & İrez, T. (2020). *İnfertil Hastalarda Demografik ve Laboratuvar Profilin Oosit Parametreleri ve in Vitro Fertilizasyon Başarısı Üzerine Etkileri*. 51(2), 59–63.

Topçu, H. O., Evliyaoğlu, Ö., & Şahin, Y. (2017). How Basic Infertility Research Should Be? *Türk Üreme Tıbbı ve Cerrahisi Dergisi*, 1(2), 104–111.
<https://doi.org/10.24074/tjrms.2016-54252>

Tosumoğlu, E. (2018). *İnfertil Erkeklerin Sperm Örneklerinde Dna Fragmentasyon Oranlarının Kromozom Anöploidileri İle İlişkisi*.

Uz, D. G. Ö. (2018). *İnfertilite Tedavisi Alan Kadınların Beslenme Durumu ve Yaşam Tarzının Embriyo Kalitesine Etkisi*.

Yalçinkaya, S. (2019). *ICSI Uygulanan Üremeye Yardımcı Tedavi (ÜYTE) Sikluslarında Eşi Kriptozoospermik/Şiddetli Oligozoospermik Hastaların Normospermik Olanlarla Gebelik Oranlarının Karşılaştırılması*. 126(1), 1–7.

Zeren, A. G. F. (2016). *İnfertilite Tedavisi Alan Çiftlerde,Çift Uyumunun Yaşam Kalitesi Üzerine Etkisi*.